

Medizinische Fakultät  
der  
Universität Duisburg-Essen  
Aus der Neurologischen Klinik und der Klinik für Knochenmarktransplantation

**Pilotstudie zu neuromuskulären Komplikationen im Rahmen einer Transplantat-  
gegen-Wirt-Reaktion nach allogener hämatopoietischer  
Stammzelltransplantation**

Inaugural-Dissertation  
zur  
Erlangung des Doktorgrades der Medizin  
durch die Medizinische Fakultät  
der Universität Duisburg-Essen

Vorgelegt von  
Abhiyrahmi Thirugnanasambanthan  
aus Essen  
2014

Dekan: Herr Univ.-Prof. Dr.med. J. Buer

1. Gutachter: Herr Univ.-Prof. Dr. med. H. C. Diener

2. Gutachter: Frau Univ.-Prof. Dr.med. K. Fleischhauer

Tag der mündlichen Prüfung: 16. Juni 2015

## Publikationen

Koeppen, S., Thirugnanasambanthan, A., Koldehoff, M., (2014): Neuromuscular complications after hematopoietic stem cell transplantation. Support Care Cancer, Springer Verlag Berlin-Heidelberg

Daten der Studie wurden teilweise publiziert als Poster beim

- 2. ASORS Jahreskongress 2011, Berlin
- DGN-Kongress 2012, Hamburg
- 3. ASORS Jahreskongress 2013, Berlin

## Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Einführung</b>	7
<b>1.1</b>	<b>Hämatopoietische Stammzelltransplantation</b>	7
1.1.1	Stammzellen	7
1.1.2	Indikation	8
1.1.3	Stammzellgewinnung	8
1.1.4	Stammzelltransplantation	9
1.1.5	BMT vs. PBSCT	9
<b>1.2</b>	<b>Die Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion</b> (engl.: Graft-versus-host-disease (GvHD))	10
1.2.1	Akute graft-versus-host-disease (aGvHD)	11
1.2.1.1	Pathophysiologie der aGvHD	11
1.2.1.2	Klinik der aGvHD	11
1.2.1.3	Schweregradeinteilung der aGvHD	12
1.2.1.4	Prävention der aGvHD	13
1.2.1.5	Therapie der aGvHD	13
1.2.2	Chronische graft-versus-host-disease (cGvHD)	13
1.2.2.1	Pathophysiologie der cGvHD	13
1.2.2.2	Klinik der cGvHD	13
1.2.2.3	Schweregradeinteilung der cGvHD	16
1.2.2.4	Therapie der cGvHD	16
<b>1.3</b>	<b>Neurologische Symptome der GvHD</b>	16
1.3.1	Zentralnervöse Manifestationen	16
1.3.2	Neuromuskuläre Manifestationen der GvHD	17
1.3.2.1	Myositis	17
1.3.2.2	Crampi	17
1.3.2.3	Polyneuropathie	18
1.3.2.3	Myasthenia gravis	18

<b>1.4</b>	Wertigkeit laborchemischer und elektrophysiologischer Untersuchungen in der GvHD Diagnostik	18
<b>1.5</b>	Fragestellung	19
<b>2.</b>	<b>Patienten</b>	19
<b>2.1</b>	Ethische und rechtliche Aspekte	19
<b>2.2</b>	Studienpopulation	19
<b>2.3</b>	Ein- und Ausschlusskriterien	19
2.3.1	Einschlusskriterien	20
2.3.2	Ausschlusskriterien	20
<b>3.</b>	<b>Methoden</b>	21
<b>3.1</b>	Anamnese	21
3.1.1	Prä- und Posttransplantationsverlauf	21
3.1.2	Neuromuskuläre Komplikationen im Rahmen der Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion (GvHD)	22
<b>3.2</b>	Körperliche Untersuchung	22
<b>3.3</b>	Elektroneurographie	22
<b>3.4</b>	Elektromyographie	24
<b>3.5</b>	Analyse serologischer Befunde	24
<b>3.6.</b>	Analyse des Chimärismus	26
<b>3.7</b>	Analyse immunologischer Befunde	26
<b>3.8</b>	Statistik	27

<b>4.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>27</b>
<b>4.1</b>	Charakteristika der Patienten	27
<b>4.2</b>	Anamnese und Untersuchungsbefund	28
<b>4.3</b>	Elektroneurographische Ergebnisse	35
<b>4.4</b>	Elektromyographische Ergebnisse	35
<b>4.5</b>	Immunologische Messergebnisse	40
<b>4.6</b>	Chimärismus	40
<b>4.7</b>	Serologische Messergebnisse	41
<b>5.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>45</b>
<b>6.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>52</b>
<b>7.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>53</b>
<b>8.</b>	<b>Anhang</b>	<b>59</b>
<b>8.1</b>	Tabellenverzeichnis	59
<b>8.2</b>	Anamnese Erhebungsbogen	60
<b>8.3</b>	Total Neuropathy Score	62
<b>8.4</b>	Erfassung der grobmotorischen Fähigkeiten	69
<b>8.5</b>	Erfassung der feinmotorischen Fähigkeiten	72
<b>8.6</b>	EORTC QLQ CIPN 20	74
<b>8.7</b>	Erfassung der Koordination	76
<b>8.8</b>	Erfassung der Muskelkraft	78
<b>8.9</b>	Handdynamometrie	79
<b>9.</b>	<b>Abkürzungen</b>	<b>80</b>
<b>10.</b>	<b>Danksagung</b>	<b>83</b>
<b>11.</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>84</b>

## 1.Einführung

Die Klinik für Knochenmarktransplantation, Westdeutsches Tumorzentrum, Universitätsklinikum Essen ist die größte und aktivste Einrichtung für allogene Stammzelltransplantationen in Europa. Im Jahr 2012 erhielten hier 194 Patienten eine allogene hämatopoietische Stammzelltransplantation (HSCT) als kuratives Therapieverfahren bei Erkrankungen des Knochenmarks oder lymphatischen Systems. Deutschlandweit werden jährlich mehr als 2000 Stammzelltransplantationen durchgeführt. Die Zahlen belegen nicht nur die große Bedeutung der HSCT sondern auch die der limitierenden Komplikation, der Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion (*engl.: Graft-versus-host-disease (GvHD)*). Diese tritt bei 30-50% der Patienten nach allogener HSCT auf und ist in 30-60% der Fälle mit neurologischen Symptomen assoziiert.

### 1.1 Hämatopoietische Stammzelltransplantation

#### 1.1.1 Stammzellen

Als Stammzellen werden Körperzellen bezeichnet, die sich in verschiedene Zelltypen und Gewebe ausdifferenzieren können. Man unterscheidet pluripotente embryonale Stammzellen mit der Fähigkeit, sich in zahlreiche Zelltypen zu differenzieren, von adulten multipotenten Stammzellen mit der Fähigkeit, eine begrenzte Zahl anderer Gewebe zu bilden. Adulte Stammzellen befinden sich vor allem im Knochenmark, aber auch in der Haut, im Fettgewebe, im Nabelschnurblut, im Menstruationsblut, im Gehirn, in der Leber und Bauchspeicheldrüse. Zu den adulten Stammzellen gehören Muskel-, Leber-, neuronale und hämatopoietische Stammzellen. Die hämatopoietischen Stammzellen können sich zu Zellen des peripheren Blutes und Immunsystems differenzieren. Der Surrogatmarker für hämatopoietische Stammzellen ist das CD (Cluster of differentiation) 34 Membranprotein. Es ist auf unreifen wie auf determinierten hämatopoietischen Stammzellen exprimiert. Die Fähigkeit, sich in verschiedene Zelltypen zu differenzieren, gibt die Perspektive, kranke Zellen durch körpereigenes Ersatzgewebe auszutauschen, und damit eine klinische Anwendbarkeit bei unterschiedlichen Krankheitsbildern.

### 1.1.2 Indikation

Die Transplantation von blutbildenden Stammzellen ist die bislang einzige klinisch erprobte und zulässige Anwendung der Stammzell-Transplantation zur Therapie von Krankheiten. Bei der Stammzelltransplantation werden Stammzellen von einem Spender auf einen Empfänger übertragen. Die autologe Transplantation verwendet Stammzellen vom Patienten selbst. Die allogene Transplantation verwendet Stammzellen von einem gewebeverträglichen anderen Individuum. Voraussetzung für eine erfolgreiche allogene Transplantation ist die Verfügbarkeit eines kompatiblen Spenders. Hierzu werden bestimmte Gewebemerkmale, die sogenannten Human Leukocyte Antigen (HLA) -Typen untersucht. Wichtig ist die Kompatibilität bezüglich HLA-A, -B, -C und -DRB1. Je ähnlicher die HLA-Merkmale vom Spender und Empfänger sind, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit für eine erfolgreiche Transplantation. Die kurative Wirkung dieser Therapie beruht auf dem Ersatz des erkrankten hämatopoietischen Systems durch das gesunde Spendergewebe. Hauptindikationen sind die akute myeloische Leukämie (AML), die akute lymphatische Leukämie (ALL) und die chronische myeloische Leukämie (CML). Seltener Indikationen sind das myelodysplastische Syndrom (MDS), das maligne Lymphom (non-Hodgkin-Lymphom bzw. Morbus Hodgkin), die chronisch lymphatische Leukämie (CLL) und das multiple Myelom (MM). Die Indikationsstellung zur HSCT erfolgt interdisziplinär im Rahmen des Gesamtbehandlungskonzeptes der Erkrankung und der entsprechenden Prognose. In der Anfangszeit der Stammzelltransplantation wurden ausschließlich Geschwister als Stammzellspender verwendet. Aufgrund der Fortschritte in der HLA-Typisierung und Speicherung der Daten der potentiellen Stammzellspender in Knochenmarkspenderdateien werden heute mit ca. 50-70% zunehmend nicht-verwandte Stammzellspender zur Transplantation herangezogen.

### 1.1.3 Stammzellgewinnung

Grundsätzlich gibt es zwei Methoden zur Gewinnung von hämatopoietischen Stammzellen, die Entnahme aus dem Knochenmark oder aus dem peripheren Blut. Bei der Entnahme aus dem Knochenmark wird ungefähr 1 Liter Knochenmark-Blut-Gemisch aus dem Beckenkamm entnommen. Die Stammzellen werden daraus isoliert und gegebenenfalls weiter aufgereinigt. Bei der peripheren Stammzelltransplantation erhalten die Spender 4-5 Tage lang den hämatopoietischen Wachstumsfaktor (granulocyte-colony stimulating



factor (G-CSF)), dadurch werden die hämatopoietischen Stammzellen aus dem Knochenmark ins Blut mobilisiert, womit sich der Anteil an CD34<sup>+</sup>-Zellen erhöht. Diese können dann mittels Stammzellapherese aus dem Blut gewonnen werden. Anschließend werden sie eingefroren, bis sie dem Empfänger intravenös verabreicht werden.

#### 1.1.4 Stammzelltransplantation

Vor der allogenen Stammzelltransplantation erhält der Empfänger eine Konditionierungstherapie aus Chemotherapie und/ oder Radiotherapie zur Myeloablation, durch diese Vorbereitung wird die Empfängerhämatopoiese zerstört. Die zudem beim Empfänger induzierte Immunsuppression gewährleistet das Anwachsen der transplantierten Stammzellen. Die Konditionierungstherapie hat auch einen antileukämischen Effekt. Die gewonnenen Stammzellen werden dem Empfänger intravenös verabreicht. Nach der Transplantation finden die Stammzellen selbst den Weg ins Knochenmark und beginnen nach ca. 10 Tagen mit der Hämatopoiese. In der frühen Posttransplantationsphase entstehen häufig bakterielle und mykotische Infektionen. In der späten Posttransplantationsphase kommt es v.a. zu viralen und Protozoen-Infektionen. Dies liegt zum einen an der medikamentös induzierten Immunsuppression, zum anderen am krankheitsbedingt insuffizienten Immunsystem. Findet bis zum 21.Tag keine Blutbildung statt, ist von einem Transplantatversagen auszugehen.

#### 1.1.5 BMT vs. PBSCT

Die periphere Stammzelltransplantation (*engl.: Peripheral blood stem cell transplantation, (PBSCT)*) hat den Vorteil, dass sich die Blutbildung schneller erholt gegenüber der konventionellen Knochenmarktransplantation (*engl.: Bone marrow transplantation, (BMT)*). Die Patienten zeigen ein geringeres Infektions- und Blutungsrisiko, einen verminderten Transfusionsbedarf und eine verkürzte Hospitalisierung (Mahmoud, Fahmy et al. 1999). Daher werden in 71 % der hämatopoietischen Stammzelltransplantationen die adulten Zellen aus dem peripheren Blut gewonnen (Baldomero, Gratwohl et al. 2011). Die Kohortenstudie Allogeneic bone marrow vs. peripheral blood stem cell transplantation analysierte an 329 Patienten retrospektiv die Vor- und Nachteile der BMT und PBSCT. Dabei zeigten sich ähnliche Ergebnisse bzgl. des Gesamtüberlebens und der Mortalität,

jedoch fand sich eine signifikante Assoziation zwischen PBSCT und dem Auftreten einer chronischen GvHD (Auberger, Clausen et al. 2011).

## 1.2 Die Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion (*engl.: Graft-versus-host-disease (GvHD)*)

Die Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion beruht auf einem Auto-/Alloimmunmechanismus. Bei der allogenen HSCT treffen die im Transplantat enthaltenen Donor-T-Lymphozyten des Spenders auf Antigen-präsentierende Empfängerzellen des Patienten mit Bildung von autoreaktiven T-Lymphozyten. Es kommt zu einer Immunreaktion in Richtung Transplantat gegen Wirt. Bei der GvHD wird zwischen einer akuten und chronischen Form unterschieden. Die historische Einteilung, dass sich die akute Form innerhalb von 100 Tagen nach Transplantation entwickelt und es sich bei späterer Manifestation um eine chronische Form handelt, ist modifiziert worden. Das National Institute of Health (NIH) hat 2005 eine neue Klassifikation (siehe Tabelle 1) herausgegeben, in der auch späte akute Formen der GvHD (nach dem 100.Tag) und overlap Syndrome beschrieben werden (Filipovich, Weisdorf et al. 2005). Prädisponierende Faktoren für eine cGvHD sind der Zustand nach einer akuten GvHD, Fremdspendertransplantation, weiblicher Spender bei männlichem Empfänger, HLA-Mismatch, Nachweis eines gemischten Chimärismus, Zahl der transplantierten CD 34<sup>+</sup>-Zellen, Alter des Patienten, GvHD-Prophylaxe und CML als Grundkrankheit (Ferrara and Yanik 2005)

Tabelle 1: Kategorien der akuten und chronischen GvHD nach der National Institute of Health (NIH) Klassifikation

Categories of Acute and Chronic GvHD			
Category	Time of Symptoms after HCT or DLI	Presence of Acute GvHD Features	Presence of Chronic GvHD Features
<b>Acute GvHD</b>			
Classic acute GvHD	≤ 100d	Yes	No
Persistent, recurrent, or late-onset GvHD	> 100d	Yes	No

### Chronic GvHD

Classic chronic GvHD	No time limit	No	Yes
Overlap syndrome	No time limit	Yes	Yes

---

GvHD indicates graft-versus-host-disease; HCT: haematopoietic cell transplantation;

DLI: donor-lymphocyte-infusion (Filipovich, Weisdorf et al. 2005)

#### 1.2.1 Akute graft-versus-host-disease (aGvHD)

##### 1.2.1.1 Pathophysiologie der aGvHD

Die Pathophysiologie der aGvHD wurde anhand von Maus-Modellen von Ferrara und Kollegen in die drei Phasen: (1) Aktivierung der Antigen-präsentierenden Zellen (APCs); (2) Donor-T-Zell Aktivierung, Proliferation, Differenzierung und Migration; (3) Ziel-Gewebe-Zerstörung (Ferrara, Levine et al. 2009) eingeteilt.

In Phase (1) kommt es zur Beschädigung des Wirtsgewebes durch die zugrundeliegende Erkrankung und die Konditionierungstherapie. Das beschädigte Wirtsgewebe setzt proinflammatorische Zytokine wie Tumornekrosefaktor alpha (TNF $\alpha$ ), Interleukin-1 (IL-1) und Interleukin-6 (IL-6) frei. Die Zytokine vermitteln die Aktivierung der APCs des Wirtsgewebes. In Phase (2) aktivieren die APCs reife Donor-T-Zellen. Die Proliferation und Differenzierung der Donor-T-Zellen führt zur Freisetzung von Chemokinen wie TNF $\alpha$  und Lipopolysacchariden (LPS). In der Phase (3) (Effektorphase) kommt es zur T-Zell-vermittelten Zytotoxizität des Wirtsgewebes. TNF $\alpha$  induziert über den TNF $\alpha$ -Rezeptor eine Nekrose und Apoptose des Zielgewebes. Diese Zytokin-Dysregulation führt schließlich zu den typischen aGvHD Gewebsschäden (Ferrara, Levine et al. 2009).

##### 1.2.1.2 Klinik der aGvHD

Ca. 35-50% der adulten Patienten entwickeln nach allogener HSCT eine aGvHD (Jacobsohn and Vogelsang 2007). Die Inzidenz korreliert direkt mit der HLA-Disparität (Ferrara, Levine et al. 2009). Es kommt zu Manifestationen an der Haut, in der Leber und im Gastrointestinaltrakt. Die Hautveränderungen stellen sich als makulopapulöses Exanthem mit generalisiertem Juckreiz dar. Sie sind häufig Erstsymptom der GvHD und korrelieren mit dem Anwachsen (*engl. Engraftment*) der Donor-Zellen (Jacobsohn and Vogelsang 2007). Gastrointestinale Symptome sind Übelkeit, Erbrechen und Durchfall.

Die Leber-GvHD manifestiert sich mit einem Anstieg der Leberenzyme durch Cholangitis und Gallengangszerstörung (Snover, Weisdorf et al. 1984).

#### 1.2.1.3 Schweregradeinteilung der aGvHD

Die aGvHD ist eine klinische Diagnose. Tabelle 2 zeigt die klassische Schweregradeinteilung der aGvHD nach Glucksberg von 1974. Die aGvHD wird klassifiziert in I (mild), II (moderat), III (schwer) und IV (sehr schwer). Die schwere GvHD hat eine schlechte Prognose, mit einem Langzeitüberleben von 25% für Grad III und 5% für Grad IV (Cahn, Klein et al. 2005).

Tabelle 2: Schweregradeinteilung der akuten GvHD

Stage	Skin	Liver (bilirubin serum level)	Gut (stool output/day)
0	No GvHD rash	< 2 mg/dl	<500 ml/day or persistent nausea
1	Maculopapular rash < 25% BSA	2-3 mg/dl	500-999 ml/day
2	Maculopapular rash 25- 50% BSA	2-3 mg/dl 3, 1-6 mg/dl	500-999 ml/day 1000-1500ml/day
3	Maculopapular rash > 50% BSA	6, 1-15 mg/dl	Adult > 1500ml/day
4	Generalized erythro- derma + Bullous formation	>15 mg/dl	Severe abdominal pain with or without ileus
Grade			
I	Stage 1-2	None	None
II	Stage 3 or	Stage 1 or	Stage 1
III	-	Stage 2-3 or	Stage 2-4
IV	Stage 4	Stage 4	-

BSA indicates Body surface area, (Glucksberg, Storb et al. 1974)

#### 1.2.1.4 Prävention der aGvHD

Basierend auf den Maus-Modellen ist die T-Zell-Aktivierung der Hauptfaktor in der Pathogenese der GvHD. Dies war Anlass, in mehreren klinischen Studien eine T-Zell-depletierte Stammzelltransplantation bezüglich der GvHD-Inzidenz zu untersuchen. Das Transplantationsverfahren erbrachte zwar einen Inzidenzrückgang der schweren GvHD, gleichzeitig kam es aber zu vermehrten Transplantatabstoßungen, Rückfällen der malignen Erkrankung, Infektionen und Epstein-Barr-Virus-assoziierten lymphoproliferativen Erkrankungen (Ferrara, Levine et al. 2009). Die am besten untersuchten präventiven Medikamente sind das anti-thymocyte-globulin (ATG) und das anti-lymphocyte globulin (ALG). Bei diesen Präparaten handelt es sich um polyklonale Antikörper gegen Thymozyten bzw. Lymphozyten. Mögliche Nebenwirkungen sind Fieber, Schüttelfrost, Kopfschmerzen, Thrombozytopenie und Anaphylaxie. Das primäre Ziel der GvHD-Prophylaxe ist die Inhibition der T-Zell-Aktivierung. Diese erfolgt durch die Immunsuppression mit Cyclosporin, Tacrolimus oder Sirolimus.

#### 1.2.1.5 Therapie der aGvHD

Der Goldstandard in der Therapie der aGvHD ist die Anwendung von Steroiden (MacMillan, Weisdorf et al. 2002). Bei der milden GvHD der Haut (Grad I) verwendet man topische Steroide, bei zunehmenden Schweregraden werden hohe systemische Dosen gegeben. Effektiv ist die Therapie nur bei 24% der Patienten nach HLA-nicht-verwandter HSCT und bei 40% der Patienten nach HLA-verwandter HSCT (Martin, Schoch et al. 1991). Beim Nicht-Ansprechen auf die Therapie werden zusätzliche Immunsuppressiva angewendet. Eine weitere Therapiemaßnahme ist die Extrakorporale Photophorese (ECP).

### 1.2.2 Chronische graft-versus-host-disease (cGvHD)

#### 1.2.2.1 Pathophysiologie der cGvHD

Die Pathophysiologie der cGvHD ist weniger gut verstanden als die der akuten Form. Man vermutet, dass alloreaktive T-Zellen an der Manifestation der cGvHD beteiligt sind.  $CD4^{+}$ - und  $CD8^{+}$ -T-Zellen werden neben den dendritischen-Zellen als wichtige Mediatoren diskutiert (Welniak, Blazar et al. 2007).

#### 1.2.2.2 Klinik der cGvHD

Die Inzidenz der cGvHD ist unter anderem von der HLA-Disparität abhängig. Demnach entwickeln 30-50% der HSCT-Patienten mit HLA-verwandtem Spender und 60-70% mit

nicht-verwandtem Spender eine cGvHD (Lee, Vogelsang et al. 2003). Die Inzidenz der schweren GvHD ist in den letzten Jahren gestiegen, aufgrund der Zunahme an nicht-verwandten Spendern, Donor-Lymphozyten-Infusionen (DLI) und PBSCT (Lee, Vogelsang et al. 2003). Die cGvHD entwickelt sich innerhalb von drei Jahren nach Transplantation meist in zeitlicher Korrelation zu einer Dosisreduktion der Immunsuppressiva. Die verschiedenen Verlaufsformen sind in Tabelle 1 dargestellt. Die cGvHD ist die Hauptursache der Morbidität und Mortalität nach allogener Stammzelltransplantation (Ferrara and Yanik (2005). Bei der cGvHD handelt es sich um eine immundysregulatorische Störung, die Autoimmunerkrankungen (z.B. Sjögren Syndrom, Sklerodermie und primäre biliäre Zirrhose) nachahmt. Die Manifestationen können ein oder mehrere Organe und Gewebe betreffen (Sullivan, Agura et al. 1991). 2005 hat das NIH neben Diagnosekriterien auch typische klinische Manifestationen der cGvHD beschrieben. (Filipovich, Weisdorf et al. 2005).

Für die Diagnose cGvHD ist Folgendes erforderlich:

1. Unterscheidung von aGvHD
2. Anwesenheit von mindestens 1 Symptom einer cGvHD oder Anwesenheit von mindestens 1 Manifestation, die durch Biopsie oder andere relevante Tests bestätigt wurde.
3. Ausschluss von anderen möglichen Diagnosen.

Die Tabelle 3 zeigt diagnostische Anzeichen und Symptome, mit denen die Diagnose cGvHD gestellt werden kann. Tabelle 4 zeigt charakteristische Merkmale der cGvHD, die aber nicht allein ausreichen, um die Diagnose cGvHD zu stellen.

Tabelle 3: Diagnostic signs and symptoms sufficient to establish the diagnosis of chronic graft-versus-host disease (GvHD).

Skin	Poikiloderma
	Lichen planus-like features
	Morphea-like features
	Lichen sclerosus-like features
Mouth	Lichen-type features
	Hyperkeratotic plaques
	Restriction of mouth opening from sclerosis
Genitalia	Lichen planus-like features

	Vaginal scarring or stenosis
Gastrointestinal tract	Oesophageal web
	Strictures or stenosis in the upper to mid third of the esophagus
Lung	Bronchiolitis obliterans diagnosed with lung biopsy
Muscles, fascia, joints	Fasciitis
	Joint stiffness or contractures secondary to sclerosis

---

(Filipovich, Weisdorf et al. 2005, Filipovich 2008)

Tabelle 4:

Distinctive features seen in chronic graft-versus-host disease (GvHD), but insufficient alone to establish a diagnosis of chronic GvHD.

Skin	Depigmentation
Nails	Dystrophy
	Longitudinal ridging, splitting, or brittle features
	Onycholysis
	Pterygium unguis
	Nail loss (usually symmetric; affects most nails)
Scalp and body hair	New onset of scarring or nonscarring scalp alopecia (after recovery from chemoradiotherapy)
	Scaling, papulosquamous lesions
Mouth	Xerostomia
	Mucocele
	Mucosal atrophy
	Pseudomembranes
	Ulcers
Eyes	New-onset dry, gritty, or painful eyes
	Cicatricial conjunctivitis
	Keratoconjunctivitis sicca
	Confluent areas of punctate keratopathy
Genitalia	Erosions
	Fissures
	Ulcers
Lung	Bronchiolitis obliterans diagnosed with Pulmonary Function Tests and radiology

#### 1.2.2.3 Schweregradeinteilung der cGvHD

Die cGvHD wurde über mehrere Jahre in einen begrenzten (*engl. limited*) bzw. ausgedehnten (*engl. extended*) Verlaufstyp eingeteilt (Shulman, Sullivan et al. 1980). Die Arbeitsgruppe des NIH hat auch hier eine neue Einteilung veröffentlicht. Die Voraussetzung für die Anwendung des global scoring system ist die Diagnosestellung der cGvHD nach den oben genannten Kriterien (Filipovich, Weisdorf et al. 2005). In den Score gehen unter anderem Befunde der klinischen Untersuchung, Laborergebnisse und der Karnofsky-Index ein. Anhand dieser Parameter wird eine Einteilung in die Kategorien mild, moderat und schwer vorgenommen.

#### 1.2.2.4 Therapie der cGvHD

Da die Pathophysiologie der cGvHD nicht vollständig geklärt ist, gibt es Therapieansätze mit unterschiedlichen Immunsuppressiva. Der Standard ist jedoch die Therapie mit Steroid in Kombination mit einem Calcineurin-Inhibitor (Cyclosporin, Tacrolimus, Everolimus).

### 1.3 Neurologische Symptome der GvHD

Neurologische Manifestationen der GvHD werden von den meisten Autoren als selten angegeben und betreffen häufiger das periphere Nervensystem (PNS) als das zentrale Nervensystem (ZNS) (Kraus, P.D. et al. 2012). Laut Diagnosekriterien des NIH kann die Diagnose GvHD des Nervensystems nur gestellt werden, wenn eine systemische GvHD besteht und häufige neurologische Differentialdiagnosen wie Medikamententoxizität oder opportunistische Infektionen ausgeschlossen werden (Filipovich, Weisdorf et al. 2005).

#### 1.3.1 Zentralnervöse Manifestationen

Zentralnervöse Manifestationen im Rahmen der GvHD sind selten und unspezifisch. In die Diagnosekriterien des NIH wurden sie nicht aufgenommen (Filipovich, Weisdorf et al. 2005). Beschrieben werden zerebrale Vaskulitiden, Demyelinisierungen und Enzephalitis-ähnliche Erkrankungen (Grauer, Wolff et al. 2010). Bei ca. 25% der stammzelltransplantierten Patienten treten aber auch zentralnervöse Komplikationen im



Rahmen von Infektionen oder Medikamententoxizität, als metabolische Enzephalopathien oder Epstein-Barr-Virus-assoziierte Lymphome auf, daher ist die ZNS-GvHD eine Ausschlussdiagnose (Kamble, R.T. et al. 2007).

### 1.3.2 Neuromuskuläre Manifestationen der GvHD

In der vorliegenden Studie werden die häufigeren neurologischen Störungen von Seiten des PNS und der Muskulatur untersucht. Die neuromuskulären Komplikationen treten dabei vor allem im Rahmen einer cGvHD auf und betreffen den peripheren Nerv, die neuromuskuläre Endplatte, den Muskel oder die Faszie. Das NIH klassifiziert die Myositis und Polymyositis als die einzigen spezifischen neurologischen Manifestationen der cGvHD, während periphere Neuropathien und myasthene Syndrome als unspezifische Manifestationen einer cGvHD gewertet werden (Filipovich, Weisdorf et al. 2005).

#### 1.3.2.1 Myositis

Die Myositis ist eine seltene, aber typische neuromuskuläre Komplikation nach HSCT. Die Inzidenz liegt ungefähr bei 2-3 % der stammzelltransplantierten Patienten (Grauer, Wolff et al. 2010). In anderen Studien ist sie mit 3,4-7,7% angegeben (Shulman, Sullivan et al. 1980, Nelson and Mc Quillen 1988, Parker, Chao et al. 1996). Die Patienten zeigen häufig proximal betonte symmetrische Extremitätenpareesen und klagen über Myalgien. Weitere Symptome sind Fieber, Kontrakturen, Dysphagie, Eosinophilie sowie Hautveränderungen über den betroffenen Muskelgruppen. Die Symptome beginnen zwischen 3 und 69 Monate nach HSCT (Grauer, Wolff et al. 2010). Die Diagnose wird anhand der klinischen Symptomatik, der Nadel-Elektromyographie, Muskelbiopsie sowie ansteigenden Muskelenzyme im Serum gestellt.

#### 1.3.2.2 Crampi

Die schmerzvolle Kontraktion einzelner Muskeln oder Muskelgruppen ist eine wenig beschriebene, aber immer häufiger werdende neuromuskuläre Komplikation im Rahmen der cGvHD (Filipovich, Weisdorf et al. 2005). Die Crampi treten vor allem in Ruhe, nachts, aber auch durch Sport induziert auf (Kraus, P.D. et al. 2012). Ob die Crampi als Komplikation der Langzeit – Immunsuppression anzusehen oder mit der cGvHD assoziiert sind, muss noch geklärt werden.

#### 1.3.2.3 Polyneuropathie

Aufgrund der bisher publizierten Studien ist eine Polyneuropathie (PNP) bei etwa 20% der stammzelltransplantierten Patienten zu erwarten (Padovan et al. 2003). Typische klinische Symptome sind sensomotorische beinbetonte Ausfälle (sockenförmige Hypästhesie, Pallhypästhesie, reduzierte distale Muskeleigenreflexe, Paresen und eingeschränkter Lagesinn). Dabei ist eine axonale PNP deutlich häufiger als eine demyelinisierende PNP nachweisbar (Padovan et al. 2003). Die Diagnose wird anhand der klinischen Symptomatik und der Elektroneurographie gestellt. Der Pathomechanismus der Polyneuropathie im Rahmen der GvHD ist noch nicht vollständig geklärt. Differenzialdiagnostisch muss eine Schädigung des PNS durch Chemotherapie bedacht werden (Nagashima, T. et al. 2002).

#### 1.3.2.3 Myasthenia gravis

Eine Myasthenia gravis tritt bei weniger als 1% der Patienten nach allogener HSCT auf und ist mit einer cGvHD assoziiert (Shimoda, K. et al. 1994; Tse, S. et al. 1999). Es handelt sich um eine Autoimmunkrankheit mit Störung der neuromuskulären Impulsübertragung. In 90% der Fälle sind Acetylcholin-Rezeptor Antikörper (AChR-AK) im Serum vorhanden. Man geht davon aus, dass es im Rahmen der cGvHD zur Bildung von Autoantikörpern kommt. Unterschiede zwischen Spender- und Empfänger-Acetylcholin-Rezeptoren führen dazu, dass das Transplantat Antikörper gegen Empfänger-Rezeptoren produziert (Tse, S. et al. 1999). Die Myasthenia gravis tritt nach bislang publizierten Fallberichten als Spätkomplikation nach HSCT auf (Shimoda, K. et al. 1994).

### 1.4 Wertigkeit laborchemischer und elektrophysiologischer Untersuchungen in der GvHD Diagnostik

Die in dieser klinischen Studie angewandten laborchemischen Marker wurden nach ihrer Bedeutung und Anwendungshäufigkeit in den bisher erfolgten Studien über die GvHD ausgewählt. Die Marker unterstreichen dabei das Verständnis, dass es sich bei der GvHD um einen Auto-/ Alloimmunmechanismus handelt. Anhand der seriell durchgeführten Immunphänotypisierung mononukleärer Zellen aus dem peripheren Blut soll untersucht werden, ob immunologische Marker mit klinisch und elektrophysiologisch nachweisbaren neuro- und/ oder myopathischen Veränderungen korrelieren. Besonderes Interesse gilt dabei vor allem den T-Lymphozyten Subpopulationen T-Helferzellen ( $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ), zytotoxischen T-Zellen ( $CD3^+$ ,  $CD8^+$ ) und der  $CD4/CD8$ -Ratio. Darüber hinaus werden Kreatinkinase (CK) und Myoglobin als muskelspezifische Marker, die bei relevanter

Muskelschädigung freigesetzt werden, bestimmt. Autoantikörper im Serum werden bestimmt, um Alloimmunmechanismen zu erfassen. Dabei werden vor allem Myositis-spezifische Antikörper und Myositis-assoziierte Antikörper unterschieden (Traufeller, Zierz 2008). Zur Objektivierung des klinischen Beschwerdebildes werden zusätzlich elektrophysiologische Untersuchungen bestehend aus Elektroneurographie und Elektromyographie durchgeführt.

### 1.5 Fragestellung

Ziel dieser klinischen Studie ist, Einflussfaktoren von Seiten der hämatologischen Erkrankung, der immunsuppressiven Therapie und der GvHD zu identifizieren, welche das Auftreten von neuromuskulären Komplikationen begünstigen. Desweiteren soll die diagnostische Bedeutung immunologischer und serologischer Befunde für die Manifestation einer Polymyositis und Polyneuropathie analysiert werden. Als primärer Endpunkt gilt das Auftreten einer neuromuskulären Komplikation nach allogener HSCT. Sekundäre Endpunkte sind signifikante Veränderungen elektroneurographischer, immunologischer und serologischer Parameter.

## 2. Patienten

### 2.1 Ethische und rechtliche Aspekte

Die Studie wurde gemäß den ethischen Prinzipien des Weltärztebundes, niedergelegt in der Deklaration von Helsinki, und den nationalen Vorschriften für die Durchführung klinischer Studien durchgeführt. Die lokale Ethikkommission der Universität Duisburg-Essen genehmigte die Durchführung der Studie (Nr. 11-4647).

### 2.2 Studienpopulation

In diese Studie wurden 20 stammzelltransplantierte Patienten mit neuromuskulären Komplikationen, die sich im Zeitraum Juli 2011 bis Juli 2013 in der Ambulanz des Westdeutschen Tumorzentrum (WTZ) im Universitätsklinikum Essen vorstellten,

eingeschlossen. Die Patienten wurden zunächst eingehend über den Ablauf der Studie informiert und unterzeichneten eine schriftliche Einverständniserklärung.

### 2.3 Ein- und Ausschlusskriterien

Da gezielt nach neuromuskulären Komplikationen im Rahmen einer Transplantat-gegen-Wirt- Reaktion nach allogener hämatopoietischer Stammzelltransplantation gesucht wurde, wurden Patienten mit bekannten Neuropathien und Myopathien anderer Genese nicht in die Studie eingeschlossen. Außerdem wurden Patienten ausgeschlossen, die an weiteren Erkrankungen litten, durch die Störungen des peripheren Nervensystems hervorgerufen werden können.

#### 2.3.1 Einschlusskriterien

- Die Patienten/ -innen müssen mindestens 18 Jahre alt sein.
- Die Patienten/ -innen haben nach einer ausführlichen Aufklärung in die Teilnahme an der Studie bei voller Geschäftsfähigkeit eingewilligt.
- Bei den Patienten/ -innen wurde die HSCT aufgrund einer malignen hämatologischen Erkrankung durchgeführt.
- Die Patienten/ -innen wiesen vor der hämatopoietischen Stammzelltransplantation keine neuromuskulären Symptome auf.
- Die Patienten/ -innen wiesen nach der hämatopoietischen Stammzelltransplantation neuromuskuläre Symptome auf.

#### 2.3.2 Ausschlusskriterien

- Vorliegen einer anderen Erkrankung, die zu einer PNP führen kann und somit die Studienergebnisse beeinträchtigen könnte: Diabetes mellitus, unbehandelte Schilddrüsenunterfunktion, HIV Infektion oder Hepatitis C, Alkoholmissbrauch, Vitamin B6- oder B12-Mangel

- Patienten/ -innen, bei denen sich ZNS-Erkrankungen wie Hirntumoren oder spinale Tumore manifestiert haben
- Das Vorliegen einer familiären PNP
- Patienten/ -innen, die im Beobachtungszeitraum mit Medikamenten behandelt werden, die häufig neuropathische Begleiterscheinungen auslösen können.
- Beruflicher Kontakt mit PNP-verursachenden Giftstoffen wie Blei, Thallium, Quecksilber, Arsen, Insektizide
- Schwangerschaft

### 3. Methoden

Die im Rahmen der klinischen Studie vorgesehenen Untersuchungen fanden zu den Zeitpunkten der hämatonkologischen Kontrolltermine statt. Die Patienten wurden zu zwei Zeitpunkten im Abstand von ca. 3 Monaten gesehen. Bei allen Patienten wurden eine standardisierte Anamnese und neurologische Untersuchung, Laboruntersuchungen und elektrophysiologische Funktionsdiagnostik durchgeführt.

#### 3.1 Anamnese

##### 3.1.1 Prä- und Posttransplantationsverlauf

Erfragt wurden alle relevanten Aspekte der hämatopoietischen Stammzelltransplantation und das Auftreten einer GvHD. Dokumentiert wurden Alter und Geschlecht des Patienten, die Diagnose der hämatologischen Erkrankung und Indikationsstellung zur Transplantation, gewählte Konditionierungstherapie sowie Transplantationsart (PBSCT oder BMT). Erfasst wurde zudem der Spendertyp (verwandt/ nicht-verwandt), die Manifestation einer cutanen, gastrointestinalen und pulmonalen GvHD sowie die im Krankheitsverlauf eingenommene immunsuppressive Medikation.

### 3.1.2. Neuromuskuläre Komplikationen im Rahmen der Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion (GvHD)

Erfragt wurden charakteristische Symptome einer Polyneuropathie und Myopathie. Zu den sensiblen Symptomen zählten Parästhesien wie Kribbeln, Kälte- oder Hitzemißempfindungen, Taubheits- und Pelzigkeitsgefühl, Schwellungs- und Druckgefühl, neuropathische Schmerzen, Probleme beim Stehen oder Gehen im Sinne einer somatosensiblen Ataxie, Schwierigkeiten, warmes von kaltem Wasser zu unterscheiden. Zu den motorischen Symptomen gehörten Muskelschwäche, Muskelzucken, Muskelkrämpfe, Muskelschmerzen und Muskelatrophien.

### 3.2. Körperliche Untersuchung

Die körperliche Untersuchung wurde unterteilt in eine Untersuchung der Sensibilität, Motorik und Koordination. Im Bereich der Sensibilität wurden Berührungsempfindung, Spitz-Stumpf-Diskrimination, Vibrationsempfindung und Lagesinn untersucht. Im Bereich der Motorik wurden die Muskelkraft gemäß Medical Research Council (MRC) scale (Paternostro-Sluga, Grim-Stieger et al. 2008), die Griffstärke mittels Handdynamometrie (Merkies, I.S. et al. 2000), fein- und grobmotorische Fähigkeiten sowie der Reflexstatus untersucht. Die Koordination wurde mit dem Romberg-/ Tandem-Stehversuch, Tandem-Walking, Finger-Nase- und Knie-Hacke-Versuch untersucht. Die Untersuchungsergebnisse wurden auf zuvor angefertigten Dokumentationsbögen vermerkt. Die angewandten Skalen mit zugehörigem Score finden sich im Anhang.

### 3.3. Elektroneurographie

Die Elektroneurographie (ENG) dient zur Messung der motorischen und sensiblen Nervenleitgeschwindigkeiten sowie zur Messung der vom Muskel oder Nerv abgeleiteten Antwortpotentiale in Amplitude, Dauer und Form. Bei axonalen Polyneuropathien sind die motorische und sensible Nervenleitgeschwindigkeit normal, die Amplituden des

Muskelsummenaktionspotentials und des sensiblen Nervenaktionspotentials sind reduziert. Die demyelinisierenden Polyneuropathien zeigen herabgesetzte motorische und sensible Nervenleitgeschwindigkeiten. Mittels konventioneller Neurographie wurden bei den Patienten die maximalen Nervenleitgeschwindigkeiten und Amplituden folgender Nerven jeweils auf der nicht dominanten Seite gemessen:

- N. suralis
- N. peroneus, motorisch oder
- N. tibialis, motorisch

Tabelle 5:

Elektro-neurographie Normwerte der Klinik für Neurologie, Universitätsklinikum Essen

Nerv	Leitgeschwindigkeit	Amplitude	F-Wellen Latenz
N. suralis	$\geq 40,6 \text{ m/s}$	$\geq 10 \mu\text{V}$	
N. peroneus	$\geq 41,7 \text{ m/s}$	$\geq 4,0 \text{ mV}$	
Körpergröße			
< 160 cm			46,3 - 52,7 ms
$\geq 160 < 175 \text{ cm}$			49,3 - 56,9 ms
$\geq 175 < 190 \text{ cm}$			52,8 - 61,2 ms
N. tibialis	$\geq 40,6 \text{ m/s}$	$\geq 5,0 \text{ mV}$	
Körpergröße			
< 160 cm			47,3 - 54,5 ms
$\geq 160 < 175 \text{ cm}$			50,6 - 58,0 ms
$\geq 175 < 190 \text{ cm}$			55,4 - 63,6 ms

Alle Messergebnisse wurden mit den im EMG Labor der Klinik für Neurologie, Universitätsklinikum Essen etablierten Normwertgrenzen verglichen (Tabelle 5).

### 3.4 Elektromyographie

In Abhängigkeit von der klinischen Symptomatik wurde bei ausgewählten Patienten zusätzlich eine Elektromyographie (EMG) durchgeführt, um eine Aussage darüber zu machen, ob der Muskel selbst geschädigt ist (Brannagan, T.H. et al. 1997). Die EMG dient zur Messung der Muskelaktivität, dargestellt werden die Ruheaktivität, das Potential einer motorischen Einheit sowie das Aktivitätsmuster bei maximaler Innervation. Chronische Myopathien zeigen meist keine pathologische Spontanaktivität (PSA) sondern verkürzte polyphasische Potentiale mit niedrigen Amplituden. Die Myositis zeigt im EMG PSA, verkürzte polyphasische Potentiale und ein dichtes Interferenzmuster mit niedriger Amplitude bei maximaler Innervation. Bei einer neurogenen Schädigung des Muskels hingegen sieht man zunächst keine PSA sondern erst nach circa 2 Wochen und verbreiterte hochamplitudige polyphasische Potentiale im weiteren Verlauf. Abgeleitet wurde aus dem M. vastus lateralis, M. vastus medialis oder M. gastrocnemius mittels Nadelelektroden. Alle Messergebnisse wurden mit den im EMG Labor der Klinik für Neurologie, Universitätsklinikum Essen etablierten Normwertgrenzen verglichen.

### 3.5. Analyse serologischer Befunde

Den Patienten wurden im Rahmen der HSCT-Nachsorge Blutproben entnommen und im Zentrallabor des Universitätsklinikum Essen untersucht. Es wurden die CK und ihre Isoenzyme gemessen. Die Aktivitätsbestimmung des Enzyms erfolgte mittels eines optischen Tests. In Gegenwart von N-Acetylcystein und Kreatinphosphat bildet die Kreatinkinase ATP (Adenosintriphosphat). In der gekoppelten Hexokinase-6-Phosphat-Dehydrogenase-Reaktion wurde NADPH (Nicotinamidadenindinukleotidphosphat) gebildet, dessen Absorptionszunahme bei 340 nm gemessen wurde. Desweiteren wurde Myoglobin im Serum bestimmt. Die Bestimmung erfolgte durch spezifische an Polystyrolpartikel gekoppelte Myoglobin-Antikörper. Die Antikörper wurden mittels eines Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) bestimmt. Falls im Patientenserum Antikörper vorhanden waren, haben sich diese an die entsprechenden Antigene gebunden. Mit enzymmarkierten anti-IgG-Antikörpern wurden die gebundenen primären Antikörper mittels Fluoreszenzdetektion nachgewiesen. Untersucht wurden die antinukleären Antigene



SSA, SSB, SmD und U1-RNP mit Protein A und C, Scl-70-, dsDNA und ssDNA. Desweiteren wurden anti- Neutrophile zytoplasmatische Antikörper (ANCA), anti-Acetylcholin-Rezeptor (AChR) Antikörper, anti-mitochondriale AK (AMA), anti-glatte Muskulatur AK (ASMA), Anti-Skelettmuskel AK bestimmt. Bei dem Myositisprofil handelte es sich um eine quantitative Bestimmung humaner Antikörper der Klasse IgG gegen Mi-2, KU, PM-Scl, Jo-1, PL-7 und Ro52. Bei positiven Proben kam es zur Bindung zwischen den spezifischen Antikörpern und den jeweiligen Antigenen. Diese wurden dann durch die Farbreaktion eines enzymgekoppelten Anti-Human-IgG-Konjugat sichtbar gemacht. Alle Laborergebnisse wurden mit dem in Tabelle 6a gezeigter, im Zentrallabor des Universitätsklinikum Essen etablierter Normwertgrenzen verglichen (Stand 06.12.2012, Version 2.3E\_6):

Tabelle 6a:

Normwertgrenzen des Zentrallabor Universitätsklinikum Essen

Analyt	Material	Geschlecht	untere Grenze		obere Grenze	Einheit
ANA Profil	Serum	M/ W			0,7	
ANCA-IFT	Serum	M/ W			< 1:10	Titer
AChR	Serum	M/ W			< 0, 4	nmol/ l
CK	Serum	M	38	-	174	U/ l
CK	Serum	W	26	-	140	U/ l
CK MB	Serum	M/ W			< 25	U/ l
Myoglobin	Serum	M/ W			< 72	µg/ l
Myositis-Profil	Serum	M/ W			negativ	

ANCA-IFT anti- Neutrophile zytoplasmatische Antikörper- indirekter Immunfluoreszenztest

### 3.6. Analyse des Chimärismus

Mittels der Analyse des Chimärismus lässt sich der Therapieerfolg der hämatopoietischen Stammzelltransplantation kontrollieren. Für die Differenzierung von Spender- und Empfängerzellen stehen nach einer allogenen HSCT verschiedene Techniken zu Verfügung. Neben der Analyse repetitiver genomischer Sequenzen können nach gegengeschlechtlicher Transplantation auch gonosomale Regionen (mittels Sonden für X und Y-Chromosome) untersucht werden. Bei der Mehrzahl der untersuchten Patienten lag eine gegengeschlechtliche Transplantation vor, so dass mittels der Fluoreszenz-In-situ-Hybridisierung (FISH) an 500 Zellen des peripheren Blutes der Anteil der Donorzellen bestimmt wurde. Als Marker für die FISH-Analyse eignete sich der Y-Chromosomnachweis. Mittels dieser Untersuchung ließ sich eine schnelle und quantitative Aussage machen (Thiede, C. 2004). Bei nicht möglicher XY-FISH-Analyse wurden DNA-basierte Techniken durchgeführt, vor allem die quantitative Analyse kurzer repetitiver Mikrosatelliten (short tandem repeats, STR). Dennoch zeigen aktuelle Studien, dass die neue real-time Polymerasekettenreaktion (PCR) mit single nucleotide polymorphisms (SNPs) oder Y-Chromosom spezifischen Gensequenzen eine höhere Sensitivität haben als die short tandem repeats (STR)-PCR und XY-FISH-Analyse (Koldehoff, M. 2006). Ein kompletter Chimärismus (CC) liegt vor, wenn zu 100% Donorzellen nachgewiesen werden. Bei einer Koexistenz von Spender- und Empfängerzellen liegt ein gemischter Chimärismus (MC) vor.

### 3.7 Analyse immunologischer Befunde

Zur Bestimmung des zellulären Immunstatus wurden Immunogramme der Patienten erstellt. Es handelt sich dabei um eine durchflusszytometrische Analyse mittels monoklonaler Antikörper (anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8, anti-CD16/56, anti-CD19, anti-CD45 und anti-HLA-DR). Hierbei erfolgt eine simultane Messung verschiedener physikalischer und chemischer Eigenschaften an suspendierten Einzelzellen im Durchflußverfahren, nach Reaktion von fluoreszenzmarkierten monoklonalen Antikörpern mit Zelloberflächenantigenen. Besonderes Interesse galt dabei vor allem den relativen Zahlen der T-Lymphozyten Subpopulationen (T-Helferzellen ( $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ), zytotoxischen

T-Zellen (CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>) und der CD4/ CD8-Ratio. Alle Ergebnisse wurden mit den in Tabelle 6b dargestellten, im Zentrallabor des Universitätsklinikum Essen etablierten Normwertgrenzen verglichen (Stand 01.08.2010, Version 1.0):

Tabelle 6b: Normwertgrenzen des Zentrallabor Universitätsklinikum Essen

Analyt	Material	Zellen/ µl	Zellen/ %
T-Zellen (CD 3 <sup>+</sup> )	EDTA-Blut	1105 – 1978	67,0 - 81,9
T-Helferzellen (CD3 <sup>+</sup> , CD4 <sup>+</sup> )	EDTA-Blut	604 – 1188	38,6 – 57,0
zytotoxische T-Zellen (CD3 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> )	EDTA-Blut	201 – 735	17,9 – 31,0
CD4/ CD8-Ratio	EDTA-Blut		1, 10 – 3, 30

### 3.8. Statistik

Falls nicht anders angegeben, werden Daten dargestellt als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung. Die statistische Analysesoftware IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. (IBM Corp.: Armonk, NY) wurde benutzt, um die statistische Signifikanz zu bestimmen.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Charakteristika der Patienten

Die Charakteristika der Patienten sind in der Tabelle 7 zusammengefasst. Von den 20 untersuchten Patienten waren 8 (40%) Frauen und 12 (60%) Männer im Alter von  $49,9 \pm 9,6$  Jahren. Als Grunderkrankung hatten 4 (20%) eine AML, 4 (20%) eine ALL, 4 (20%) eine CML, 3 (15%) eine Osteomyelofibrose, 1 (5%) ein Mantelzelllymphom, 1 (5%) eine akute biphenotypische Leukämie, 1 (5%) eine CLL, 1 (5%) eine nicht näher bezeichnete myeloproliferative Neoplasie, 1 (5%) ein multiples Myelom. Zwischen 1992 und 2011

erhielten von den 20 Patienten 4 (20%) eine BMT und 16 (80%) eine PBSCT. Davon waren 9 (45%) vom verwandten und 11 (55%) vom nicht-verwandten Spendertyp. Die Patienten erhielten eine myeloablative Konditionierungstherapie (Fludarabin, Treosulfan, Busulfan, Cyclophosphamid, Thiotepa, ATG oder Etoposid) mit Ganzkörperbestrahlung (10 Gray (Gy)). Zum Zeitpunkt der Untersuchung hatten die Patienten eine GvHD-Prophylaxe mit Steroid in Kombination mit einem Calcineurininhibitor. Vor HSCT zeigten 19 der 20 Patienten einen unauffälligen neurologischen Befund, lediglich ein Patient zeigte neuropathische Beschwerden am ehesten im Rahmen einer Critical-illness Neuropathie.

#### 4.2. Anamnese und Untersuchungsbefund

Die untersuchten 20 Patienten haben alle im Posttransplantationsverlauf eine cGvHD entwickelt. Davon haben 17 (85 %) der Patienten eine Hautmanifestation, 4 (20 %) Mundschleimhaut- und 5 (25 %) Leberveränderungen im Rahmen der chronischen GvHD entwickelt. An einer Bronchiolitis obliterans mit organisierender Pneumonie (BOOP) erkrankten 2 (10 %) der Patienten. Die neuromuskulären Komplikationen im Rahmen der GvHD traten zwischen 2 und 120 Monaten (Median, 12 Monate) nach allogener HSCT auf. Die Mehrzahl der Patienten (65%) gab eine alleinige Muskelschwäche an, was am ehesten auf eine Myopathie hinweist. Ein weiteres motorisches Symptom, das im Vordergrund stand, waren Crampi (55%). Lediglich ein Patient (5%) entwickelte Myalgien. Auf eine PNP wiesen Kribbelparästhesien (60%), gefolgt von Hypästhesien (45%) und burning feet (5%) hin. In der neurologischen Untersuchung war der häufigste Befund eine verminderte Vibrationsempfindung (70%). Der MRC sum score (range: 0-60) lag im Mittel bei  $54,3 \pm 7,9$ . Die Griffkraft mit dem Handdynamometer gemessen lagen im Mittel bei  $15,3 \pm 6,5$  kilopond. Die meisten Patienten (70%) zeigten keine oder eine leichte Beeinträchtigung der feinmotorischen und grobmotorischen Fähigkeiten. Die Koordination war bei den meisten Patienten (67,5%) unauffällig. Der erhobene Total Neuropathy Score (TNS, range: 0-36) lag bei  $9,0 \pm 4,1$  Punkten.

Tabelle 7:

## Charakteristika der Patienten

Patient	Diagnose/ Chemotherapie	Transplantations- art/ Spendertyp	GvHD	Auftreten der neuromuskulären Manifestation	Neuromuskuläre Manifestation	Handdynamometrie (kilopond)	TNS- Score (Score 0- 36)	Verlauf
1. 52 J, w	AML (ED 11/ 07) Fludarabin	Allogene BMT/ verwandt (03/ 09)	cGvHD der Haut	12 Monate nach KMT	Neuropathische Schmerzen der Hände bei Multiorganversagen (11/07) Crampi der Hand- und Fußmuskulatur  <b>PNP</b>	16,3	5	Stabil
2. 55 J, m	CML (ED 04/ 06) Fludarabin	Allogene PBSCT/ nicht-verwandt (01/07)	Progrediente sklerodermi- forme cGvHD	12 Monate nach PBSCT	Paresen der Fingerstrecker (DIII + IV) rechts > links, Muskelschwäche in der unteren Extremität, Kribbeln in den Fingern  <b>Myopathie/PNP</b>	21,7	6,5	Stabil
3. 51 J, w	CML (ED 11/05) Fludarabin	Allogene PBSCT/ nicht-verwandt (02/07)	cGvHD der Mundschleim- haut	6 Monate nach PBSCT	Beinbetonte Neuropathie, Stand- und Gangunsicherheit, Crampi der Fußmuskulatur, Parästhesien der Finger  <b>PNP</b>	8,5	7	Progredient

Fortsetzung Tabelle 7:

Patient	Diagnose/ Chemotherapie	Transplantations- art/ Spendertyp	GvHD	Auftreten der neuromuskulären Manifestation	Neuromuskuläre Manifestation	Handdynamometrie (kilopond)	TNS- Score (Score 0- 36)	Verlauf
4. 64 J, m	Akute biphänotypische Leukämie (ED 11/ 07) Treosulfan, Fludarabin	Allogene haploidentische PBSCT/ verwandt (07/ 08)	cGvHD der Haut, Mundschleim haut; Leber	12 Monate nach PBSCT	Muskelschwäche in der oberen/ unteren Extremität, Crampi der Handmuskulatur, Burning feet, Parästhesien der Füße  <b>Myopathie/ PNP</b>	15,3	18	Stabil
5. 46 J, m	CML (ED 02/98) Cyclophosphamid , Thiotepa	Allogene PBSCT/ verwandt ( 06/ 99)	cGvHD der Haut	120 Monate nach PBSCT	Strumpfförmiges Taubheitsgefühl bds., Paresen der Zehenmuskulatur Crampi  <b>Myopathie/ PNP</b>	19,35	13	Stabil
6. 53 J, m	CLL (ED 09) Treosulfan, Fludarabin	Allogene PBSCT, nicht- verwandt (01/11)	cGvHD der Haut	5 Monate nach PBSCT	Steroid-induzierte Myopathie, beinbetonte Paresen, Muskelatrophie, Kribbelparästhesien, strumpfförmiges Taubheitsgefühl  <b>Myopathie/ PNP</b>	8,15	11	Progredient
7. 27 J, w	ALL (ED 03/10) Etoposid	Allogene PBSCT/ verwandt (08/10)	cGvHD der Haut: Dermato- sklerose (2011)	5 Monate nach PBSCT	Muskelschwäche in der unteren Extremität bds.  <b>Myopathie</b>	9,45	1	Gebessert 3 Monate später

Fortsetzung Tabelle 7:

Patient	Diagnose	Transplantations art/ Spendertyp	GvHD	Auftreten der neuromuskulären Manifestation	Neuromuskuläre Manifestation	Handdynamometrie (kilopond)	TNS- Score (Score 0- 36)	Verlauf
8. 49 J, m	CML (ED 02/00) Cyclophosphamid	Allogene PBSCT/ verwandt (05/00)	cGvHD der Haut und Mundschleim- haut BOOP	60 Monate nach PBSCT	Crampi der Fußmuskulatur  <b>Myasthenia gravis</b> (08/05)/ <b>PNP</b>	23,3	4	Stabil
9. 43 J, m	AML (ED 05/01) Treosulfan, Fludarabin	Allogene PBST/ verwandt (07/01) Allogene KMT/ nicht- verwandt (01/04)	Extendierte cGvHD mit BOOP	24 Monate nach KMT	Kältemißeempfindung Taubheit sowie Kribbelparästhesien im Vorfußbereich  <b>PNP</b>	9,7	13	Stabil
10. 59 J, m	ALL (ED 05/11) Fludarabin, Busulfan	Allogene PBSCT/ nicht- verwandt (09/ 11)	cGvHD der Haut	2 Monate nach PBSCT	Kribbelparästhesien palmar/ plantar; Hyperästhesie in den Fingern, Standataxie  <b>PNP</b>	13,4	10	Proredient
11. 56 J, m	MM (ED 09/05) Fludarabin, Bis- Chlorethyl- NitrosoUrea, Melfalan	Allogene PBSCT/ verwandt (07/11)	cGvHD der Haut	3 Monate nach PBSCT	Kribbelparästhesien im Zehenbereich, Stand- und Gangataxie, Crampi  <b>PNP</b>	27,3	5	Stabil

Fortsetzung Tabelle 7:

Patient	Diagnose	Transplantations- art/ Spendertyp	GvHD	Auftreten der neuromuskulären Manifestation	Neuromuskuläre Manifestation	Handdynamometrie (kilopond)	TNS- Score (Score 0- 36)	Verlauf
12. 42 J, w	ALL (ED 11/06) Etoposid	Allogene PBSCT/ verwandt (04/07)	cGvHD der Haut und Leber	24 Monate nach PBSCT	Kribbelparästhesien bis zu den Knien, Muskelschwäche, Crampi der Handmuskulatur  <b>Myopathie/ PNP</b>	26	9	Progredient
13. 64 J, m	AML (ED 02/ 06) Treosulfan, Fludarabin	Allogene PBSCT/ nicht verwandt (06/06)	cGvHD der Haut, Mundschleim - haut, Leber	9 Monate nach DLI	Eingeschränkte Feinmotorik, Crampi  <b>Myopathie</b>	20,3	7	Stabil
14. 44 J, m	AML (ED 06/06) Fludarabin	Allogene KMT/ nicht-verwandt	cGvHD der Haut, Mundschleim - haut	12 Monate nach KMT	Muskelschwäche in der oberen Extremität, Crampi der Handmuskulatur, Hypästhesie im distalen Unterschenkel bds.  <b>Myopathie/ PNP</b>	9	16	Progredient
15. 46J, w	Sekundäre Osteomyelo- fibrose nach essentieller Thrombo- zythämie (ED 10/96)	Allogene PBST/ verwandt, (08/02)	cGvHD der Haut, Mundschleim - haut, Leber	72 Monate nach PBST	Muskelschwäche in der oberen Extremität, Crampi der Hand- muskulatur  <b>Myopathie</b>	27	9	Stabil



Fortsetzung Tabelle 7:

Patient	Diagnose	Transplantationsart/ Spendertyp	GvHD	Auftreten der neuromuskulären Manifestation	Neuromuskuläre Manifestation	Handdynamometrie (kilopond)	TNS-Score (Score 0-36)	Verlauf
16. 32J, w	ALL (ED 01/11) Etoposid	Allogene PBSCT/ nicht verwandt (07/11)	cGvHD der Haut nach DLI	14 Monate nach PBSCT	Crampi der kleinen Hand- und Fußmuskulatur, leichtgradige Stand- und Gangataxie  <b>Myopathie</b>	10	7	Stabil
17. 51 J, w	Osteomyelo- fibrose (ED 12/09) Fludarabin, Busulfan, Thiotepa, Melphalan	Allogene PBSCT/ verwandt (04/10)	cGvHD der Haut	24 Monate nach PBSCT	Myalgien der Unterarme, Kribbelparästhesien und Taubheitsgefühl der Hände links > rechts, leichtgradige Stand- und Gangataxie  <b>Myopathie/ PNP</b>	9,4	7	Proredient
18. 55 J, w	Osteomyelo- fibrose (ED 11/92) Fludarabin, Busulfan	Allogene PBSCT/ nicht- verwandt (09/12)	cGvHD der Haut	2 Monate nach PBSCT	Progrediente beinbetonte Paresen, Kribbelparästhesien, Hypästhesie Unterschenkel und Fuß bds.  <b>Myopathie/ PNP</b>	13	11	Proredient

Fortsetzung Tabelle 7:

Patient	Diagnose	Transplantations- art/ Spendertyp	GvHD	Auftreten der neuromuskulären Manifestation	Neuromuskuläre Manifestation	Handdynamometrie (kilopond)	TNS- Score (Score 0- 36)	Verlauf
19. 64 J, m	Myeloproliferativ Neoplasie, (ED 10/09) Treosulfan, Fludarabin	Allogene KMT, nicht-verwandt (06/10)	cGvHD der Haut und der Leber	24 Monate nach PBST	Paresen untere Extremität Taubheitsgefühl und Kribbelparästhesien bds. <b>Myopathie/ PNP</b>	9	14	Progredient
20. 44 J, m	Mantelzell- Lymphom Cyclophosphamid (07/07)	Allogene PBSCT/ nicht verwandt (08/ 10)	cGvHD der Haut	3 Monate nach PBSCT	Crampi der Handmuskulatur, Kribbelparästhesien der Finger bds.  <b>Myopathie/ PNP</b>	10	7	Progredient

Abkürzungen: J Jahre, w weiblich, m männlich, ED Erstdiagnose, AML akute myeloische Leukämie, ALL akute lymphatische Leukämie, CML chronisch myeloische Leukämie, MM Multiples Myelom, BMT Knochenmarktransplantation, PBST periphere Blutstammzelltransplantation, aGvHD acute graft-versus –host –disease, cGvHD chronic graft-versus-host-disease, PNP Polyneuropathie, n.d. nicht durchgeführt

#### 4.3 Elektroneurographische Ergebnisse

Die neurographischen Befunde sind in Tabelle 8 zusammengefasst. Bei insgesamt 15 (75 %) Patienten ließen sich bei der Messung Abweichungen von den zugrundegelegten Normwerten feststellen. Am häufigsten fand sich eine herabgesetzte Amplitude ( $< 4,0$  mV) des motorischen Summenaktionspotentials (MSAP) des N. peroneus (12 Patienten, 60 %). Bei 6 (40%) Patienten lag die motorische Nervenleitgeschwindigkeit (NLG) des N. peroneus unter dem Grenzwert von 41,7m/s. Bei 3 Patienten fand sich ein herabgesetztes MSAP ( $< 5,0$  mV) des N. tibialis, bei einem Patienten eine herabgesetzte NLG des N. tibialis. Bei 3 (20%) Patienten lag die NLG des N. suralis unterhalb des Normbereichs ( $< 40,6$  m/s), bei 6 (40%) Patienten war das sensible Nervenaktionspotential ( $< 10$   $\mu$ V) herabgesetzt.

#### 4.4 Elektromyographische Ergebnisse

Die elektromyographischen Befunde sind in Tabelle 8 zusammengefasst. Bei 6 der 20 Patienten wurde aufgrund der Symptomatik eine EMG durchgeführt, bei den restlichen Patienten wurde aufgrund fehlender Indikation und des invasiven Charakters der Untersuchung darauf verzichtet. Bei 2 der 6 (33,3 %) Patienten konnten Fibrillationspotentiale im EMG erhoben werden. Ein Patient (16,7 %) zeigte eine vermehrte Polyphasierate in der MUAP (muscle unit action potential) –Analyse. Bei einem weiteren Patient (16,7%) konnten an zwei Stellen im Muskel Faszikulationen und vermehrte Endplattenpotentiale, bei normaler MUAP-Analyse und Interferenzmuster nachgewiesen werden. 2 Patienten (33,3 %) zeigten keine Spontanaktivität, eine normale MUAP-Analyse und ein normales Interferenzmuster.

Tabelle 8:

## Elektroneurographische/ Elektromyographische Befunde der Patienten

Patient	Befund	Diagnose	Erhebungsdatum
1. 52 J, w	N. peroneus links: dML 11,1 ms, MSAP 2,5 mV, mNLG 53,7 m/s N.suralis links: SNAP 26 $\mu$ V , sNLG 53,3 m/s	Axonale sensomotorische PNP	25.07.2011
2. 55 J, m	N. peroneus links: dML 5,9 ms, MSAP 1,0 mV, mNLG 66,7 m/s N. suralis bds. : nicht ableitbar	Axonale sensomotorische PNP	05.07.2011
3. 51 J, w	N. peroneus: links grenzwertige mNLG, relative Verzögerung der dML, grenzwertige MSAP und fehlende F-Welle N. suralis: rechts verlangsamte sNLG	Demyelinisierende PNP	02.03.2012
4. 64 J, m	N. peroneus links: dML 6,5 ms, MSAP 2,3 mV, mNLG 65,8 m/s N.suralis: links kein SNAP nachweisbar	Axonale sensomotorische PNP	01.08.2011
5. 46 J, m	N. peroneus rechts: dML 13,9 ms, MSAP 6,0 mV, mNLG 40,7 m/s, F- Wellen-Latenz 59,5 ms N. suralis links: SNAP 3,9 $\mu$ V, sNLG 44,8 m/s	Axonale sensible PNP	09.03.2007
	<b>EMG</b> (M. tibialis anterior): Keine PSA, normale MUAP, normales IF- Muster	Normaler Befund	09.03.2007
6. 53 J, m	N. tibialis links: kein MSAP nachweisbar N. suralis links: kein SNAP nachweisbar	Axonale sensomotorische PNP	27.09.2011
7. 27 J, w	N. peroneus links: dML 3,96 ms, MSAP 0,60 mV, mNLG 46,8 m/s , F- Wellen nicht erhältlich N. suralis links: SNAP 6,8 $\mu$ V, sNLG 48,5 m/s	Axonale motorische PNP	06.03.2012

Fortsetzung Tabelle 8

Patient	Befund	Diagnose	Erhebungsdatum
8. 49 J, m	N. peroneus links: dML 12,4 ms, MSAP 3,0 mV, mNLG 48,7 m/s, F-Wellen Latenzen nicht eindeutig abgrenzbar N. suralis links: SNAP 6,8 $\mu$ V, sNLG 51,9 m/s	Axonale sensomotorische PNP	24.01.2012
9. 43 J, m	N. peroneus rechts: dML 11,9 ms, MSAP 4,8 mV, mNLG 40,3 m/s, F-Wellen-Latenz 52,0 ms N. suralis links: SNAP 5,9 $\mu$ V, sNLG 43,1 m/s	Normaler Befund	16.03.2010
	<b>EMG</b> (M. vastus medialis links): keine PSA, IF-Muster diskret gelichtet, MUAP-Analyse mit vermehrter Polyphasierate	V.a. neurogene Muskelschädigung	16.03.2010
10. 59 J, m	N. peroneus links: dML 12,8 ms, MSAP 0,5 mV, mNLG 54,7 m/s, F-Wellen-Latenz 53,7 ms N. suralis links: SNAP nicht darstellbar	Axonale sensomotorische PNP	26.09.2012
	<b>EMG</b> (M. gastrocnemius links): Kein PSA, aber an zwei Stellen vermehrte Faszikulationen und Endplattenpotentiale, IF-Muster normal, keine Polyphasie	Keine manifeste myopathische Veränderung DD: beginnende Denervierungszeichen bei bekannter motorischer Neuropathie	26.09.2012
11. 56 J, m	N. peroneus links: mNLG 44 m/s N. suralis links: 8,5 $\mu$ V und sNLG 41,6 m/s	Normaler Befund	20.02.2012
12. 42 J, w	N. tibialis links dML 15,2 ms, MSAP 0,3 mV, mNLG 39,8 m/s, F-Wellen-Latenz 60,5 ms N. suralis: links kein SNAP abgrenzbar	Axonale sensomotorische PNP	12.04.2011

Patient	Befund	Diagnose	Erhebungsdatum
13. 64 J, m	N. peroneus links: dML 4,95 ms, MSAP 0,4 mV, mNLG 40,0 m/s, F-Wellen rarefiziert N. suralis links: kein SNAP erhältlich	Axonale sensomotorische PNP	19.03.2012
14. 44 J, m	N. peroneus links: dML 13,8 ms, MSAP 0,4 mV, mNLG 55,6 m/s, F-Wellen-Latenz 53,7 ms N.suralis links: SNAP nicht darstellbar	Axonale sensomotorische PNP	27.03.2012
	<b>EMG</b> (M. vastus medialis links): PSA in Form von Positiven scharfen Wellen und Fibrillationspotentialen	Myopathie	27.03.2012
15. 46 J, w	N. tibialis links: dML 12,7 ms, MSAP 2,8 mV, mNLG 49,4 m/s, F-Wellen-Latenz 52,3 ms N. suralis links: SNAP 3,1µV, sNLG 58,7 m/s	Axonale sensomotorische PNP	08.04.2008
	<b>EMG</b> (M. gastrocnemius links): keine PSA, IF-Muster myogen verändert mit früher Faserrekrutierung	Myopathie	08.04.2008
16. 32 J, w	N. peroneus links: dML 3,66 ms, MSAP 4,0 mV, mNLG 39,1 m/s, F-Wellen inkonstant bei normaler Latenzzeit N. suralis links: SNAP 6,3 µV, sNLG 32,6 m/s	Demyelinisierende PNP	27.09.2012
17. 51 J, w	N. peroneus links: dML 11,6 ms, MSAP 2,3 mV, mNLG 40,8 m/s, F-Wellen-Latenz 55,8 ms N. suralis links: SNAP 17,6 µV und sNLG 46,7m/s	Beginnende axonale PNP	19.12.2012
18. 55 J, w	N. peroneus links: dML 3,25 ms, MSAP 4,1 mV, mNLG 45,7 m/s n. suralis links: SNAP 15.0 µV, sNLG 41,9 m/s	Normaler Befund	05.11.2012

Patient	Befund	Diagnose	Erhebungsdatum
19. 64 J, m	N. peroneus links: dML 11,2 ms, MSAP 0,75 mV, mNLG 45,2 m/s, F-Wellen-Latenz regelrecht N. suralis links: SNAP 8,8 µV und sNLG 41,8 m/s  <b>EMG</b> (M vastus lateralis rechts): keine PSA, IF-Muster normal, MUAP-Analyse normal	Axonale PNP  Normaler Befund	19.04.2013
20. 44J, m	N. peroneus links: dML 4,20 ms, MSAP 1,64 mV, mNLG 37,8 m/s, F-Wellen nicht erhältlich N. suralis links: SNAP 4,2 µV, sNLG 40,7 m/s	Beginnende axonale sensomotorische PNP	27.11.2012
Abkürzungen: DD Differenzialdiagnose, dML distale motorische Latenz, MSAP Muskelsummenaktionspotenzial, mNLG motorische Nervenleitgeschwindigkeit, sNLG sensible Nervenleitgeschwindigkeit, SNAP sensibles Nervenaktionspotenzial, PSA pathologische Spontanaktivität, MUAP motor unit action potential (Aktionspotential einer motorischen Einheit), IF-Muster Interferenzmuster, n.d. nicht durchgeführt.			

#### 4.5 Immunologische Messergebnisse

In Tabelle 9 wird die Zellzahl der T-Helferzellen und zytotoxischen T-Zellen zum Zeitpunkt der Transplantation und Manifestation der neuromuskulären Komplikationen verglichen. Hierbei handelt es sich ausschließlich um relative Zahlen. Zum Zeitpunkt der Transplantation ist bei 18 (90 %) Patienten der Anteil der T-Helferzellen erniedrigt (bei einem (5 %) erhöht und bei einem (5 %) normwertig). Beim Erstauftreten der neurologischen Komplikationen steigt nur bei einem Patient der Zellanteil der T-Helferzellen an, bei den 17 weiteren Patienten zeigt sich keine Veränderung. Die zytotoxischen T- Zellen zeigen bei 13 (65 %) Patienten zum Zeitpunkt der Transplantation pathologische Werte. Bei der Mehrzahl dieser Patienten (62 %) zeigt sich ein erhöhter Anteil an zytotoxischen T- Zellen. Zum Zeitpunkt der Manifestation der neuromuskulären Komplikationen lässt sich bei den meisten Patienten ein weiterer Anstieg der zytotoxischen T-Zellen beobachten. In Tabelle 10 wird die CD4/ CD8 – Ratio zum Zeitpunkt der Transplantation, der Manifestation der neuromuskulären Komplikationen und zum Zeitpunkt der neurologischen Evaluation dargestellt. Die aus den T-Lymphozyten Subpopulationen gebildete CD4/ CD8 – Ratio ist bei 14 (70 %) Patienten erniedrigt, bei 4 (20 %) normwertig und bei 2 (10 %) erhöht zu Beginn der neurologischen Symptome. Der Mittelwert der CD4/ CD8 – Ratio zum Zeitpunkt der Transplantation liegt bei 1,36 und zum Zeitpunkt des Beginns der neuromuskulären Komplikationen bei 1,02. Vergleicht man die CD4/ CD8- Ratio im Rahmen der Transplantation mit dem zum Zeitpunkt der Manifestation der neuromuskulären Komplikationen erhobenen Wert, zeigt sich bei 12 (60%) der Patienten ein Abfall bzw. eine weiterhin niedrige CD4/ CD8 – Ratio.

#### 4.6 Chimärismus

Bei 19 der 20 (95 %) Patienten lag zum Zeitpunkt der Untersuchung ein kompletter Chimärismus vor, lediglich bei einem Patienten (5 %) wurde ein gemischter Chimärismus mit 98% Donorzellen bestimmt.



#### 4.7 Serologische Messergebnisse

Die serologischen Befunde sind in Tabelle 11 zusammengefasst. Die Kreatinkinase (CK) im Serum lag zwischen 20 und 475 U/l ( $88,1 \pm 81,0$  U/l). Bei 7 (35%) Patienten wurden pathologische Werte bestimmt. Dabei zeigten 3 (15%) Patienten CK-Werte oberhalb und 4 (20 %) Patienten unterhalb der Normgrenze. Die CK-MB wurde bei hochpathologischer CK mitbestimmt. Das Myoglobin lag zwischen 19 und 99  $\mu\text{g/l}$  ( $51,2 \pm 20,8$   $\mu\text{g/l}$ ). Bei 4 ( $n = 19$ ; 21,1 %) wurden pathologische Werte bestimmt. Das ANA Profil war bei 12 ( $n = 19$ , 63,2 %) Patienten  $> 0,7$  und damit positiv. Der ANA-Titer lag zwischen 1: 80 und 1: 2560. Das abgenommene Myositisprofil zeigte nur bei einem Patienten ( $n = 19$ ; 5,2%) den positiven Nachweis des Anti-PM-Scl.

Tabelle 9:

Relative Zahlen der T-Helferzellen ( $\text{CD4}^+$ ) und zytotoxischen T-Zellen ( $\text{CD8}^+$ )

Patient	T-Helferzellen ( $\text{CD4}^+$ in %)		zytotoxische T-Zellen ( $\text{CD8}^+$ in %)	
	Transplantation	Symptombeginn	Transplantation	Symptombeginn
1. 52 J, w	23,7	28,5	10,3	27
2. 55 J, m	29	31,1	4,6	7,5
3. 51 J, w	14,6	1,9	77,4	62,8
4. 64 J, m	0,2	5	0,2	46,4
5. 46 J, m	8,8	19,9	18,4	50,9
6. 53 J, m	74,8	74,8	12,9	12,9
7. 27 J, w	33,9	29,5	35	50,7
8. 49 J, m	43	45,8	21,3	21,1
9. 43 J, m	15	17,6	59,5	60,5
10. 59 J, m	22,5	22,5	33,7	33,7
11. 56 J, m	27,1	27,1	27,6	27,6
12. 42 J, w	32,7	29,4	18	15,8
13. 64 J, m	7,2	24,2	36,5	24,6
14. 44 J, m	33,9	26,6	21,3	12,4
15. 46 J, w	30,7	41,78	44,1	52,9
16. 32 J, w	0,7	9,1	7,1	87,9
17. 51 J, w	36	26	60,38	67,4
18. 55 J, w	17,3	9,7	35,9	39,4
19. 64 J, m	5,5	10,9	86,04	83,8
20. 44J, m	13,95	31,9	21,9	49,1

Pathologische Werte sind rot unterlegt.

Tabelle 10:

## CD4/ CD8 – Ratio

Patient	CD4/ CD8 – Ratio Transplantation	CD4/ CD8 – Ratio Symptombeginn	CD4/ CD8 – Ratio Verlauf
1. 52 J, w	2,2	1,1	1
2. 55 J, m	6,3	4,2	4,2
3. 51 J, w	0,5	0	0
4. 64 J, m	0,9	0,1	0,1
5. 46 J, m	0,5	0,4	0,4
6. 53 J, m	5,7	5,8	5,8
7. 27 J, w	1	0,6	0,6
8. 49 J, m	2	2,2	2,2
9. 43 J, m	0,3	0,3	0,3
10. 59 J, m	0,7	0,7	0,7
11. 56 J, m	1	1	1
12. 42 J, w	1,8	1,9	1,9
13. 64 J, m	0,2	1	1
14. 44 J, m	1,6	2,1	2,1
15. 46 J, w	0,7	0,8	0,789
16. 32 J, w	0,1	0,1	0,4
17. 51 J, w	0,6	0,4	0,6
18. 55 J, w	0,5	0,2	0,245
19. 64 J, m	0,06	0,1	0,13
20. 44J, m	0,6	0,7	0,65

Pathologische Werte sind rot unterlegt. Der Verlaufswert wurde während dem Studienzeitraum bestimmt.

Tabelle 11: Serologische und Immunologische Messergebnisse

Patient	Creatinkinase (U/ l)	Myoglobin (µg/ l)	Autoantikörper (Titer)	Myositis-Profil (positiv/negativ)	T- Helferzellen (CD 4 /%)	zytotoxische T- Zellen (CD 8/ %)	CD4/CD8- Ratio	Chimärismus
1. 52 J, w	103 166	51 68	negativ	negativ	28,5	27,0	1,1	CC
2. 55 J, m	115 220 CK-MB 17	40 62	ANA positiv (1:640)	negativ	31,1	7,5	4,2	CC
3. 51 J, w	475 CK-MB 5 77	92 44	negativ	negativ	1,9	62,8	0	CC
4. 64 J, m	30 52	19 21	negativ	negativ	5	46,4	0,1	CC
5. 46 J, m	96 110	35 34	negativ	negativ	19,9	50,9	0,4	CC
6. 53 J, m	27 21	62 60	negativ	negativ	74,8	12,9	5,8	CC
7. 27 J, w	90 129	40 78	ANA positiv (1:640)	negativ	29,5	50,7	0,6	CC
8. 49 J, m	124	57	ANA positiv (1:160) AChR-Ak 0,27 nmol/l	negativ	45,8	21,1	2,2	CC
9. 43 J, m	42	62	ANA positiv (1:80)	negativ	17,6	60,5	0,3	CC

Fortsetzung Tabelle 11:

Patient	Creatinkinase (U/l)	Myoglobin (µg/l)	Autoantikörper (Titer)	Myositis-Profil (positiv/negativ)	T- Helferzellen (CD 4/ %)	zytotoxische T- Zellen (CD8/ %)	CD4/CD8- Ratio	Chimärismus
10. 59 J, m	72 20	79 99	negativ	negativ	22,5	33,7	0,7	CC
11. 56 J, m	44	45	ANA positiv (1:2560)	negativ	27,1	27,6	1	CC
12. 42 J, w	71	39	ANA positiv (1:2560)	Anti-PM-Scl positiv	29,4	15,8	1,9	CC
13. 64 J, m	44	35	ANA positiv (1:2560)	negativ	24,2	24,6	1	CC
14. 44 J, m	66 41	90 46	ANA positiv (1:320)	negativ	26,6	12,4	2,1	CC
15. 46 J, w	79 59	57 60	ANA positiv (1:80)	negativ	41,8	52,9	0,8	CC
16. 32 J, w	57 31	35 28	negativ	negativ	9,1	87,9	0,1	GC
17. 51 J, w	70 65	22 31	ANA positiv (1:1280)	negativ	26,0	67,4	0,4	CC
18. 55 J, w	50	n.d.	n.d.	n.d.	9,7	39,4	0,2	CC
19. 64 J, m	119	58	ANA positiv (1:320)	negativ	10,9	83,8	0,1	CC
20. 44 J, m	32 111	37	ANA positiv (1:320)	negativ	32,0	49,1	0,7	CC

Abkürzungen: CC Kompletter Chimärismus, GC Gemischter Chimärismus, n.d. nicht durchgeführt.

Pathologische Werte sind rot unterlegt. Untersuchungen im Rahmen der hämatologischen Kontrollterminen (zu 2 Zeitpunkten im Abstand von 3 Monaten).

## 5. Diskussion

### 5.1 Neuromuskuläre Komplikationen im Rahmen der GvHD

#### 5.1.1 Myositis

Die Myositis wird nach der PNP als häufigste neuromuskuläre Manifestation mit einer Inzidenz bis zu 7,7 % nach HSCT beschrieben. In der vorliegenden Studie entwickelten 4 von 20 (20 %) der Patienten eine Myopathie bzw. Polymyositis. Eine kombinierte PNP mit Myopathie zeigten 10 (50 %) der Patienten. Alle Patienten waren von einer milden bis moderaten systemischen cGvHD betroffen. Zum Zeitpunkt der Erstmanifestation der neuromuskulären Komplikation lag anamnestisch eine Änderung der immunsuppressiven Therapie vor. Im Verlauf zeigten die Patienten ein relativ gutes Ansprechen auf Steroide bzw. Ciclosporin, was für eine immunologische Pathogenese der Symptomatik im Rahmen der GvHD spricht. In allen Fällen war ein Auftreten der neurologischen Störungen im Rahmen der chronischen GvHD zu beobachten, mit Erstmanifestation im Mittel nach 12 Monaten. Einflussfaktoren, die eine Polymyositis anderer Genese wie Schilddrüsenerkrankung, andere Autoimmunerkrankungen, eine aktive virale Infektion oder myotoxische Medikamente vermuten lassen, wurden weitgehend ausgeschlossen. Lediglich diskutiert werden kann eine Steroid-Myopathie, allerdings wird beschrieben, dass diese vorwiegend durch 9-alpha-fluorierte Kortikosteroide wie Triamcinolon, Betamethason und Dexamethason, welche in der cGvHD Therapie nicht eingesetzt werden, induziert wird (Grauer, Wolff et al. 2010). Aufgrund dessen kann man die neuromuskulären Komplikationen, die die Patienten nach HSCT entwickelt haben, nach den NIH Diagnosekriterien als Manifestation der cGvHD ansehen.

#### 5.1.2 Polyneuropathie

In den bisher publizierten Studien lag das Auftreten einer Polyneuropathie als neuromuskuläre Komplikation im Rahmen der GvHD bei 20% der stammzelltransplantierten Patienten (Padovan et al. 2003). In der aktuellen Studie fand man bei 5 der 20 (25 %) Patienten eine beinbetonte sensomotorische PNP, die im Verlauf bei 3 Patienten stabil und bei 2 progredient verlief, sowie bei 10 (50%) Patienten in Kombination mit einer Myopathie bzw. Polymyositis, die bei 7 Patienten progredient verlief. Patient 8 zeigte neben der Myasthenia gravis eine PNP, die sich ebenfalls erst spät manifestierte und im Verlauf stabil war. In vorausgegangenen Studien ist eher eine milde, reversible sensomotorische axonale PNP in der Frühphase nach KMT beschrieben. In der

vorliegenden Studie traten die neurologischen Symptome jedoch erst in der Spätphase der Transplantation (Median 12 Monate) auf. Alle Patienten präsentierten neben den neurologischen Beschwerden auch andere Manifestationen einer cGvHD. Da die Entwicklung der PNP mit der Krankheitsdynamik der cGvHD übereinstimmte, ist eine kausale Beziehung zwischen Neuropathie und GvHD anzunehmen. Eine vorbestehende Neurotoxizität kann nicht ausgeschlossen werden, denn alle Patienten haben im Rahmen der Konditionierungstherapie eine Chemotherapie erhalten und zum Zeitpunkt der Studie eine GvHD-Prophylaxe mit Steroid und Ciclosporin oder einem Calcineurin-Inhibitor. Im Gegensatz zu Tacrolimus, welches eine Chronische inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie (CIDP) induzieren kann, gibt es für Ciclosporin keine systematischen Studien zur peripheren Neurotoxizität (Padovan et al. 2003). Da aber keine bioptisch-histologischen Befunde vorliegen, kann bezüglich der Ätiologie der PNP nur ein Verdacht geäußert werden.

#### 5.1.3 Myasthenia gravis

Die Myasthenia gravis ist nach den bislang publizierten Fallberichten eine Spätkomplikation, die im Mittel etwa 3 Jahre nach allogener KMT auftritt (Padovan et al. 2003). Die Inzidenz liegt bei  $< 1\%$  (Shimoda, K. et al. 1994; Tse, S. et al. 1999). In die vorliegende Studie wurde ein Patient mit Myasthenia gravis eingeschlossen, auch hier trat die Erstmanifestation ca. 5 Jahre nach Stammzelltransplantation auf. Klinisch manifestierte sich bei dem Patient eine leichte okuläre Form der Myasthenia gravis mit Übergang in eine milde generalisierte Form. Zum Zeitpunkt der Untersuchung präsentierte der Patient keine myasthenen Symptome unter einer Kombinationstherapie mit Prednison und Pyridostigminbromid. Das gute Therapieansprechen der HSCT Patienten ist typisch für die GvHD - assoziierte Myasthenia gravis (Grauer, Wolff et al. 2010). Zum Zeitpunkt der Untersuchung lag die Serumkonzentration des Acetylcholin-Rezeptors Antikörper mit 0,27 nmol/l im Referenzbereich. Dabei wird auf die Studie von Bolger et al. verwiesen, wonach der Antikörpernachweis wahrscheinlich mit der Schwere der Myasthenia gravis korreliert ist und daher bei der hier dargestellten milden Form negativ sein kann (Bolger, G.B. et al. 1986).

## 5.2 Diagnostische Befunde

### 5.2.1 Elektroneurographie - Befunde

In der durchgeführten Neurographie zeigten 13 (65%) Patienten eine axonale sensomotorische PNP, 6 (30 %) einen Normalbefund und 1 (5%) Patient eine demyelinisierende PNP. Das Ergebnis stimmt mit der retrospektiven Studie von Padovan et al., in der auch die axonale sensomotorische PNP die häufigste Form im Rahmen der GvHD ist, überein (Padovan et al. 2003).

### 5.2.2 Elektromyographie - Befunde

In der durchgeführten EMG zeigten 2 von 6 (33,3 %) Patienten ein typisches myopathisches Muster ohne Spontanaktivität. Bei einem Patient (16,7 %) konnte eine neurogene Muskelschädigung und bei 3 (50 %) Patienten ein Normalbefund nachgewiesen werden. Auf eine weiterführende invasive Muskelbiopsie wurde bewusst verzichtet.

### 5.2.3 Serologische Befunde

In der Diagnostik von neuromuskulären Erkrankungen haben neben der klinischen und elektrophysiologischen Untersuchung auch laborchemische Untersuchungen eine Bedeutung. Dazu gehören die Bestimmung der Kreatinkinase (CK) und Auto-Antikörper im Serum. Die bei den Studienpatienten gemessene CK ist mit Werten zwischen 20 und 475 U/ l niedrig. In vergleichbaren Studien sind Werte bis zu 8400 U/ l (Stevens et al., 2003) beschrieben. Obgleich grundsätzlich gilt, dass muskuläre Symptome mit CK-Erhöhung auf eine Myopathie hinweisen, muss betont werden, dass es auch strukturelle Myopathien mit fehlender oder leichter CK-Erhöhung gibt (Traufeller, Zierz 2008). Eine mögliche Erklärung ist zudem, dass die überwiegende Anzahl der Patienten einen stabilen Verlauf zeigte und relativ frühzeitig bei Auftreten von Symptomen therapiert wurde. Aber auch bei den Patienten mit progredientem Verlauf und zunehmender Muskelatrophie war die CK-Serumkonzentration nicht größer als 475 U/ l, sodass man zusammenfassend in Übereinstimmung mit Maillard-Lefebvre davon ausgehen kann, dass dieser serologische Parameter nicht sensitiv für die Diagnose Myositis ist (Stevens et al., 2003, Maillard-Lefebvre et al., 2010). Laut Traufeller et al. lassen sich bei etwa der Hälfte der Patienten mit einer entzündlichen Muskelerkrankung Auto-Antikörper nachweisen, so dass die Antikörper-Bestimmung weniger als Diagnose- sondern eher als Verlaufsparemeter genutzt werden kann (Traufeller, Zierz 2008). Das ANA-Profil ist bei 63,2 % der Patienten pathologisch. Das Ergebnis ist insoweit bemerkenswert, als alle 20 Patienten zumindest

klinisch eine chronische GvHD präsentieren, aber nicht alle pathologische Auto-Antikörper-Titer. Zudem sind bis jetzt keine Studien über die Korrelation der Schwere der GvHD mit Auto-Antikörper-Titern veröffentlicht worden (Wechalekar, et al., 2005). Nach Traufeller et al. ist zu vermuten, dass Patienten mit einem hohen Auto-Antikörper-Titer einen progredienten Verlauf haben werden im Unterschied zu denjenigen ohne Auto-Antikörper Nachweis. Um diese Aussage zu stützen, müsste man die Patienten im Verlauf weiter untersuchen. . Desweiteren waren auch anti-mitochondriale AK (AMA), anti-glatte Muskulatur AK (ASMA), Anti-Skelettmuskel-AK, anti-SSA-, anti-SSB-, anti-Sm-, anti-U1-RNP-, anti-Scl-70-, anti-dsDNA- und anti-ssDNA- AK nicht nachweisbar. Im Rahmen der breit angelegten Antikörpersuche wurde auch das Myositis-Profil untersucht. Lediglich bei einem Patienten (5 %), der klinisch eine kombinierte Myopathie mit PNP präsentierte, fand man den Antikörper Anti-PM-Scl-100. In der Literatur ist ein Nachweis des Antikörpers bei 6 % der Myositis Patienten beschrieben (Traufeller, Zierz 2008). Dieser gehört zu den assoziierten Myositis-Antikörpern neben Anti-Ro52, PM/Scl-75, Anti-MAS, Anti-Ro60, Anti-La, Anti U1-snRP. Die spezifischen Myositis-Antikörper Jo 1-AK, weitere Anti-Synthetase-AK, Mi2-AK, SRP-AK waren bei keinem der Patienten nachweisbar. Aufgrund der geringen Anzahl an Studienteilnehmern lässt sich keine Aussage über die Spezifität dieses Profils machen. Da man aber in anderen Studien vergleichbare Ergebnisse fand, kann man zusammenfassend sagen, dass das Myositis-Profil, welches spezifisch für die idiopathische Polymyositis ist, sich für die Diagnosestellung der Myositis im Rahmen der GvHD nicht eignet (Maillard-Lefebvre et al., 2010).

#### 5.2.4 Immunologische Befunde

Von einigen Autoren (Ho, V.T., et al. 2001, McIver, Z.A, et al. 2011) wurde bereits die immunologische Rekonstitution nach HSCT untersucht. Die Immunrekonstitution verläuft für die einzelnen Lymphozyten-Populationen in einem unterschiedlichen Zeitverlauf, häufig erholen sich die B-Lymphozyten und natürliche Killerzellen (NK) bzw. NKT-Zellen, vor den T-Lymphozyten. Die CD4<sup>+</sup>-T-Zell Rekonstitution ist dabei essentiell für die Entwicklung der Immunkompetenz und unterschiedliche T-Zellpopulationen vermitteln verschiedene immunologische Reaktionen (McIver, Z.A, et al. 2011). Studien über eine unterschiedliche Korrelation der CD4/ CD8-Ratio mit der Assoziation bzw. Manifestation von neurologischen Komplikationen im Rahmen der allogenen Transplantation und/oder bestehenden GvHD Symptomen sind selten und zeigen zum Teil widersprüchliche



Ergebnisse. Von den untersuchten 20 Patienten ließen sich sowohl absolute und relative Zahlen der CD4<sup>+</sup>- sowie der CD8<sup>+</sup>-T-Zellen und die CD4/ CD8-Ratio zum Zeitpunkt der Transplantation, bei Erstmanifestation der neuromuskulären Komplikationen und zum Zeitpunkt der neurologischen Evaluation betrachten. Die absoluten Zellzahlen der T-Zellkompartimente zeigten jedoch in der vorliegenden Studie keine richtungsweisende Veränderung, daher erwies es sich als sinnvoller, die relativen Zellzahlen und damit einen Quotienten/Ratio der CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup> Zellen zu betrachten. Beim Vergleich der CD4<sup>+</sup>-T-Zellen zum Zeitpunkt der Transplantation und beim Erstauftreten der Komplikationen zeigte sich keine wesentlichen Veränderung. Die relativen T-Helferzellen waren bei der Mehrzahl der Patienten im Verlauf unverändert niedrig, am ehesten im Rahmen einer schwachen Immunrekonstitution oder durch die unterschiedlichen Begleitmedikamente bzw. die verschiedenen Grunderkrankungen der untersuchten Kohorte bedingt. Bei den zytotoxischen T-Zellen zeigte sich, dass der relative Anteil überproportional erhöht war und es schien, dass mit dem Symptombeginn der neurologischen Komplikationen es zu einem weiteren Anstieg der zytotoxischen T-Zellen kam. Dies könnte möglicherweise der Beobachtung entsprechen, dass im Rahmen der Immunrekonstitution sich zwar die CD4<sup>+</sup>-T-Zellen langsam erholen, aber die CD8<sup>+</sup>-T-Zellen schneller regenerieren. Aufgrund dieser Konstellation erscheint die CD4/ CD 8-Ratio zu Beginn des Transplantationsverlaufes erniedrigt. Demnach lässt sich ein Einfluss zwischen dem Anstieg der zytotoxischen T-Zellen, dem Abfall der CD4/CD8-Ratio und der Manifestation von neurologischen Komplikationen bei vorhandener cGvHD nur beschreiben. Inwieweit hier jedoch sogenannte Bystander Effekte eine Rolle spielen, konnte nicht weiter differenziert werden. In den bisherigen publizierten Studien findet sich dieses methodische Problem in den widersprüchlichen Ergebnissen bezüglich der CD4/CD8-Ratio und dem Erstauftreten von neurologischen Symptomen und immunologischen Befunden wieder. In einer älteren Studie, in der die T-Zell-Rekonstitution bei HSCT-Patienten mit und ohne GvHD untersucht wurde, fand man heraus, dass die Manifestation der GvHD keinen Einfluss auf die CD4/ CD8-Ratio hat (Friedrich, W., et al. 1982). In einer darauffolgenden Studie hingegen gab es eine Korrelation der Grad II-IV GvHD mit der schnelleren Proliferation der CD 8<sup>+</sup>-T-Zellen (Gratama, J.W., et al. 1984). Dies könnte ein Hinweis sein, dass die CD8<sup>+</sup> Zellen und damit auch die CD4/CD8-Ratio eine Rolle im Rahmen von neurologischen Komplikationen und GvHD nach allogener Transplantation haben könnten. Im Rahmen der klinischen Entwicklung und Anwendung von T-Zell-depletierten Transplantaten zur Reduktion von schwerwiegenden GvHD-assoziierten Erkrankungen

und Mortalitätsverminderung lassen sich zunehmende Fortschritte erreichen, bei jedoch erhöhter Rezidiv-Wahrscheinlichkeit durch den verminderten Allo-Effekt. Inwieweit die Gabe von  $CD8^{+}$ -depletierten Spenderlymphozyten (sogenannte Donorlymphozyten Infusionen, DLI) die Inzidenz und Schwere der GvHD reduzieren kann ist Gegenstand von klinischen Protokollen (Ho, V.T., et al. 2001). Im Umkehrschluss könnte dies für die vorliegende Studie bedeuten, dass ein erhöhter Anteil von  $CD8^{+}$ -T-Zellen und folglich eine reduzierte  $CD4/CD8$  –Ratio eine mögliche Rolle im Rahmen von neurologischen Komplikationen bzw. einer Manifestation der GvHD mit Assoziation von neurologischen Komplikationen spielen. Um den Zusammenhang zwischen der Immunrekonstitution und neurologischen Komplikationen nach allogener Transplantation zu klären, sollten prospektive Untersuchungen der Immunrekonstitution, der GvHD und neurologischen Komplikationen an einer homogenen Studiengruppe mit einer definierten Kontrollgruppe durchgeführt werden. Anhand derer lässt sich vielleicht sogar in Zukunft eine prognostische Wertigkeit unterschiedlicher T-Zellsubpopulationen, der  $CD4/CD8$  – Ratio und der Identifizierung unterschiedlicher T-Zellklone bzw. Populationen herausarbeiten. Diese Studien wären wünschenswert, denn die neurologischen Komplikationen stellen weiterhin eine relevante Komplikation im Rahmen der allogenen Stammzelltransplantation dar und beeinflussen maßgeblich die Lebensqualität der Patienten, trotz der erfolgreichen Beeinflussung der bösartigen Grunderkrankungen durch eine Knochenmarktransplantation bzw. hämatopoietische Stammzelltransplantation.

### 5.3 Limitationen der Studie

Die vorliegende Studie weist eine Anzahl von Limitierungen auf, die bei den möglichen Schlussfolgerungen bedacht werden müssen. Aufgrund der geringen Fallzahl und schwierigen Etablierung einer geeigneten Kontrollgruppe haben die statistischen Auswertungen eine möglicherweise eingeschränkte Aussagekraft. Zu den geplanten neurologischen Untersuchungen konnten leider keine Patienten, ohne entsprechendes neurologisches Beschwerdebild gewonnen werden. Weiterführende Untersuchungen wie Elektromyographie und Muskelbiopsien wurden aufgrund ihres invasiven Charakters nicht bei allen Patienten durchgeführt. Desweiteren ist eine Beeinflussung der Immunrekonstitution durch die Vielzahl der Medikamente und immunsuppressiven Therapieschemata sehr wahrscheinlich. Bei der Diagnosestellung GvHD-assoziierter neuromuskulärer Störungen muss insbesondere bei der PNP differenzialdiagnostisch auch an eine mögliche toxische Genese gedacht werden, z.B. infolge einer vorangegangenen Chemotherapie mit Vincristin.

## 6. Zusammenfassung

### Fragestellung:

Gibt es eine Korrelation zwischen immunologischen und serologischen Befunden bei Manifestation neuromuskulärer Komplikationen im Rahmen der Graft versus host disease (GvHD)?

### Hintergrund:

Nach hämatopoietischer Stammzelltransplantation kommt es in 30-60% der Fälle zu neurologischen Symptomen, meist im Zusammenhang mit einer GvHD. Bei den neurologischen Störungen handelt es sich in der Mehrzahl um Polyneuropathien, gefolgt von Myopathien und myasthenen Syndromen. Als pathogenetische Grundlage werden Auto-/Alloimmunmechanismen angenommen.

### Methoden:

Von den Patienten des Westdeutschen Tumorzentrum am Universitätsklinikum Essen, bei denen aufgrund einer malignen hämatologischen Erkrankung eine Stammzelltransplantation durchgeführt wurde, werden 20 Fälle mit GvHD und neurologischer Symptomatik präsentiert. Im Follow-up erhobene klinische, elektrophysiologische, serologische und immunologische Befunde werden dargestellt.

### Ergebnisse:

Von den 20 Patienten werden 5 Patienten mit einer Polyneuropathie, 10 Patienten mit kombinierter Polyneuropathie und Myopathie, 4 Patienten mit einer Myopathie bzw. Polymyositis und ein Patient mit Myasthenia gravis präsentiert. Die Latenz zwischen Stammzelltransplantation und Entwicklung neuromuskulärer Symptome variiert zwischen 2 und 120 Monaten. Eine immunvermittelte sensomotorische Polyneuropathie nach einer Stammzelltransplantation ist durch eine vorwiegend axonale Läsion gekennzeichnet. Bei einer Polymyositis sind klinisch typischerweise proximal betonte, symmetrische Extremitätenpareesen mit begleitender Muskelatrophie nachweisbar. Die Kreatinkinase im Serum (CK i.S.) beträgt in den dargestellten Fällen maximal 475 U/l, bei 14 Patienten finden sich pathologische Autoantikörper, jedoch nur in einem Fall Myositis-spezifische Antikörper. Zum Zeitpunkt der Erstmanifestation der neuromuskulären Symptome fällt bei 17 Patienten der Anteil der T-Helferzellen und bei 12 Patienten steigen die zytotoxischen T-Zellen im peripheren Blut an. Dementsprechend wird ein Abfall der CD4/ CD8 - Ratio beobachtet.

### Schlussfolgerung:

Als Verlaufsparemeter zur Beurteilung GvHD-assoziiierter neuromuskulärer Störungen scheinen neben der standardisierten klinisch-neurologischen Befunderhebung sequentielle Bestimmungen der T-Lymphozyten Subpopulationen im peripheren Blut geeigneter zu sein als Autoantikörper-Titer-Kontrollen.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Auberger, J., J. Clausen, B. Kircher, G. Kropshofer, B. Lindner and D. Nachbaur (2011): "Allogeneic bone marrow vs. peripheral blood stem cell transplantation: a long-term retrospective single-center analysis in 329 patients." Eur J Haematol **87**(6): 531-538.
2. Baldomero, H., Gratwohl, M., Gratwohl, A., Tichelli, A., Niederwieser, D., Madrigal, A., Frauendorfer, K., European Group for Blood and Marrow Transplantation EBMT. (2011): The EBMT activity survey 2009: trends over the past 5 years. *Bone Marrow Transplant.* 46, 485-501.
3. Bolger, G.B., Sullivan, K.M., Spence, A.M., Appelbaum, F.R., Johnston, R., Sanders, J.E., Deeg, H.J., Witherspoon, R.P., Doney, K.C., Nims, J. (1986): Myasthenia gravis after allogeneic bone marrow transplantation: relationship to chronic graft-versus-host disease. *Neurology.* 36, 1087-1091.
4. Brannagan, T.H., Hays, A.P., Lange, D.J., Trojaborg, W. (1997): The role of quantitative electromyography in inclusion body myositis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 63, 776-779.
5. Cahn, J.Y., Klein, J.P., Lee, S.J., Milpied, N., Blaise, D., Antin, J.H., Leblond, V., Ifrah, N., Jouet, J.P., Loberiza, F., Ringden, O., Barrett, A.J., Horowitz, M.M., Socie, G., Societe Francaise de Greffe de Moelle et Therapie Cellulaire, Dana Farber Cancer Institute, International Bone Marrow Transplant Registry. (2005): Prospective evaluation of 2 acute graft-versus-host (GVHD) grading systems: a joint Societe Francaise de Greffe de Moelle et Therapie Cellulaire (SFGM-TC), Dana Farber Cancer Institute (DFCI), and International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) prospective study. *Blood.* 106, 1495-1500.
6. Ferrara, J. L., J. E. Levine, P. Reddy and E. Holler (2009). "Graft-versus-host disease." Lancet **373**(9674): 1550-1561.
7. Ferrara, J. L. and G. Yanik (2005). "Acute graft versus host disease: pathophysiology, risk factors, and prevention strategies." Clin Adv Hematol Oncol **3**(5): 415-419, 428.

8. Filipovich, A. H. (2008). "Diagnosis and manifestations of chronic graft-versus-host disease." Best Pract Res Clin Haematol **21**(2): 251-257.
  
9. Filipovich, A. H., D. Weisdorf, S. Pavletic, G. Socie, J. R. Wingard, S. J. Lee, P. Martin, J. Chien, D. Przepiorka, D. Couriel, E. W. Cowen, P. Dinndorf, A. Farrell, R. Hartzman, J. Henslee-Downey, D. Jacobsohn, G. McDonald, B. Mittleman, J. D. Rizzo, M. Robinson, M. Schubert, K. Schultz, H. Shulman, M. Turner, G. Vogelsang and M. E. Flowers (2005). "National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report." Biol Blood Marrow Transplant **11**(12): 945-956.
  
10. Friedrich, W., O'Reilly, R.J., Koziner, B., Gebhard, D.F., Jr, Good, R.A., Evans, R.L. (1982): T-lymphocyte reconstitution in recipients of bone marrow transplants with and without GVHD: imbalances of T-cell subpopulations having unique regulatory and cognitive functions. Blood. **59**, 696-701.
  
11. Glucksberg, H., R. Storb, A. Fefer, C. D. Buckner, P. E. Neiman, R. A. Clift, K. G. Lerner and E. D. Thomas (1974). "Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors." Transplantation **18**(4): 295-304.
  
12. Gratama, J.W., Naipal, A., Oljans, P., Zwaan, F.E., Verdonck, L.F., de Witte, T., Vossen, J.M., Bolhuis, R.L., de Gast, G.C., Jansen, J. (1984): T lymphocyte repopulation and differentiation after bone marrow transplantation. Early shifts in the ratio between T4+ and T8+ T lymphocytes correlate with the occurrence of acute graft-versus-host disease. Blood. **63**, 1416-1423.
  
13. Grauer, O., Wolff, D., Bertz, H., Greinix, H., Kuhl, J.S., Lawitschka, A., Lee, S.J., Pavletic, S.Z., Holler, E., Kleiter, I. (2010): Neurological manifestations of chronic graft-versus-host disease after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: report from the Consensus Conference on Clinical Practice in chronic graft-versus-host disease. Brain. **133**, 2852-2865.

14. Ho, V.T., Soiffer, R.J. (2001): The history and future of T-cell depletion as graft-versus-host disease prophylaxis for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 98, 3192-3204.
15. Jacobsohn, D. A. and G. B. Vogelsang (2007). "Acute graft versus host disease." *Orphanet J Rare Dis* 2: 35.
16. Kamble, R.T., Chang, C.C., Sanchez, S., Carrum, G. (2007): Central nervous system graft-versus-host disease: report of two cases and literature review. *Bone Marrow Transplant*. 39, 49-52.
17. Koldehoff, M., Steckel, N.K., Hlinka, M., Beelen, D.W., Elmaagaccli, A.H. (2006): Quantitative analysis of chimerism after allogeneic stem cell transplantation by real-time polymerase chain reaction with single nucleotide polymorphisms, standard tandem repeats, and Y-chromosome-specific sequences. *Am. J. Hematol*. 81, 735-746.
18. Kraus, P.D., Wolff, D., Grauer, O., Angstwurm, K., Jarius, S., Wandinger, K.P., Holler, E., Schulte-Mattler, W., Kleiter, I. (2012): Muscle cramps and neuropathies in patients with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and graft-versus-host disease. *PLoS One*. 7, e44922.
19. Laurenti, L., Sica, S., Salutari, P., Rutella, S., Serafini, R., D'Onofrio, G., Rumi, C., Leone, G. (1998): Assessment of hematological and immunological function during long-term follow-up after peripheral blood stem cell transplantation. *Haematologica*. 83, 138-142.
20. Lee, S. J., G. Vogelsang and M. E. Flowers (2003). "Chronic graft-versus-host disease." *Biol Blood Marrow Transplant* 9(4): 215-233.
21. MacMillan, M. L., D. J. Weisdorf, S. M. Davies, T. E. DeFor, L. J. Burns, N. K. Ramsay, J. E. Wagner and B. R. Blazar (2002). "Early antithymocyte globulin therapy improves survival in patients with steroid-resistant acute graft-versus-host disease." *Biol Blood Marrow Transplant* 8(1): 40-46.

22. Mahmoud, H., O. Fahmy, A. Kamel, M. Kamel, A. El-Haddad and D. El-Kadi (1999). "Peripheral blood vs bone marrow as a source for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation." Bone Marrow Transplant **24**(4): 355-358.
23. Maillard-Lefebvre, H., Morell-Dubois, S., Lambert, M., Charlanne, H., Launay, D., Hachulla, E., Yakoub-Agh, I., Hatron, P.Y. (2010): Graft-versus-host disease-related polymyositis. *Clin. Rheumatol.* 29, 431-433.
24. Martin, P. J., G. Schoch, L. Fisher, V. Byers, F. R. Appelbaum, G. B. McDonald, R. Storb and J. A. Hansen (1991). "A retrospective analysis of therapy for acute graft-versus-host disease: secondary treatment." Blood **77**(8): 1821-1828.
25. McIver, Z.A., Melenhorst, J.J., Grim, A., Naguib, N., Weber, G., Fellowes, V., Khuu, H., Stroncek, D.S., Leitman, S.F., Battiwalla, M., Barrett, A.J. (2011): Immune reconstitution in recipients of photodepleted HLA-identical sibling donor stem cell transplantations: T cell subset frequencies predict outcome. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 17, 1846-1854.
26. Merkies, I.S., Schmitz, P.I., Samijn, J.P., Meche, F.G., Toyka, K.V., van Doorn, P.A. (2000): Assessing grip strength in healthy individuals and patients with immune-mediated polyneuropathies. *Muscle Nerve.* 23, 1393-1401.
27. Miller, T.M., Layzer, R.B. (2005): Muscle cramps. *Muscle Nerve.* 32, 431-442.
28. Nagashima, T., Sato, F., Chuma, T., Mano, Y., Sasaki, I., Mori, M., Higa, T., Masauji, N., Kasai, M., Orba, Y., Shinohara, T., Nagashima, K. (2002): Chronic demyelinating polyneuropathy in graft-versus-host disease following allogeneic bone marrow transplantation. *Neuropathology.* 22, 1-8.
29. Nelson, K. R. and M. P. McQuillen (1988). "Neurologic complications of graft-versus-host disease." Neurol Clin **6**(2): 389-403.



30. Padovan, C.S., Sostak, P., Reich, P., Kolb, H.J., Muller-Felber, W., Straube, A. (2003): Neuromuscular complications after allogeneic bone marrow transplantation. *Nervenarzt*. 74, 159-166.
  
31. Parker, P., N. J. Chao, J. Ben-Ezra, N. Slatkin, H. Openshaw, J. C. Niland, C. A. Linker, B. S. Greffe, A. Kashyap, A. Molina, A. Nademanee, M. R. O'Donnell, I. Planas, K. Sheibani, E. P. Smith, D. S. Snyder, R. Spielberger, A. S. Stein, D. E. Stepan, K. G. Blume and S. J. Forman (1996). "Polymyositis as a manifestation of chronic graft-versus-host disease." *Medicine (Baltimore)* **75**(5): 279-285.
  
32. Paternostro-Sluga, T., M. Grim-Stieger, M. Posch, O. Schuhfried, G. Vacariu, C. Mittermaier, C. Bittner and V. Fialka-Moser (2008). "Reliability and validity of the Medical Research Council (MRC) scale and a modified scale for testing muscle strength in patients with radial palsy." *J Rehabil Med* **40**(8): 665-671.
  
33. Shimoda, K., Gondo, H., Harada, M., Sano, T., Nakamura, M., Otsuka, T., Okamura, S., Niho, Y. (1994): Myasthenia gravis after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 14, 155-156.
  
34. Shulman, H. M., K. M. Sullivan, P. L. Weiden, G. B. McDonald, G. E. Striker, G. E. Sale, R. Hackman, M. S. Tsoi, R. Storb and E. D. Thomas (1980). "Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients." *Am J Med* **69**(2): 204-217.
  
35. Snover, D. C., S. A. Weisdorf, N. K. Ramsay, P. McGlave and J. H. Kersey (1984). "Hepatic graft versus host disease: a study of the predictive value of liver biopsy in diagnosis." *Hepatology* **4**(1): 123-130.
  
36. Stevens, A.M., Sullivan, K.M., Nelson, J.L. (2003): Polymyositis as a manifestation of chronic graft-versus-host disease. *Rheumatology (Oxford)*. 42, 34-39.
  
37. Sullivan, K. M., E. Agura, C. Anasetti, F. Appelbaum, C. Badger, S. Bearman, K. Erickson, M. Flowers, J. Hansen, T. Loughran and et al. (1991). "Chronic graft-versus-host

disease and other late complications of bone marrow transplantation." Semin Hematol **28**(3): 250-259.

38. Thiede, C., Bornhauser, M., Ehninger, G. (2004): Strategies and clinical implications of chimerism diagnostics after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Acta Haematol.* 112, 16-23.

39. Traufeller, K., Zierz, S., (2008): Wertigkeit laborchemischer Untersuchungen bei neuromuskulären Erkrankungen. Management of neuromuscular diseases. Arcis Verlag. 13, 1-8.

40. Tse, S., Saunders, E.F., Silverman, E., Vajsar, J., Becker, L., Meaney, B. (1999): Myasthenia gravis and polymyositis as manifestations of chronic graft-versus-host-disease. *Bone Marrow Transplant.* 23, 397-399.

41. Wechalekar, A., Cranfield, T., Sinclair, D., Ganzckowski, M. (2005): Occurrence of autoantibodies in chronic graft vs. host disease after allogeneic stem cell transplantation. *Clin. Lab. Haematol.* 27, 247-249.

42. Welniak, L. A., B. R. Blazar and W. J. Murphy (2007). "Immunobiology of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation." Annu Rev Immunol **25**: 139-170.

## 8. Anhang

### 8.1 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Kategorien der akuten und chronischen GvHD nach der National Institute of Health (NIH) Klassifikation	10
Tabelle 2:	Schweregradeinteilung der akuten GvHD	12
Tabelle 3:	Diagnostic signs and symptoms sufficient to establish the diagnosis of chronic graft versus host disease	14
Tabelle 4:	Distinctive features seen in chronic graft-versus-host disease (GvHD), but insufficient alone to establish a diagnosis of chronic GvHD	15
Tabelle 5:	Elektroneurographie Normwerte der Klinik für Neurologie, Universitätsklinikum Essen	23
Tabelle 6a:	Normwertgrenzen des Zentrallabor Universitätsklinikum Essen	25
Tabelle 6b:	Normwertgrenzen des Zentrallabor Universitätsklinikum Essen	25
Tabelle 7:	Charakteristika der Patienten	29
Tabelle 8:	Elektroneurographische/ Elektromyographische Befunde der Patienten	36
Tabelle 9:	T-Helferzellen (CD4) und zytotoxische T-Zellen (CD8)	42
Tabelle 10:	CD4/ CD8-Ratio	43
Tabelle 11:	Serologische und Immunologische Messergebnisse	44

## 8.2 Anamnese-Erhebungsbogen

### **Eigenanamnese:**

Name:

Vorname:

Geburtstag:

Geschlecht:

Größe:

Gewicht:

Datum der Diagnosestellung der Polyneuropathie/Myopathie:

Erstsymptome:

Aktuelle Symptome:

Bestehende Krankheiten:

Frühere Krankheiten:

Diabetes:

Vaskulitis:

Erhöhter Blutdruck:

Gicht:

Allergien:

Operationen:

### **Familienanamnese:**

Ist eine Polyneuropathie/Myopathie in Ihrer Familie bekannt?

**Soziale Anamnese:**

Beruf:

Versorgung:

**Medikation:**

Aktuelle Medikation:

Chemotherapeutika/wann?:

Immunsuppressiva/wann?:

HSCT /wann?:

DLI/wann?:

**Genussmittel:**

Alkohol:

Nikotin:

### 8.3 Total Neuropathy Score

#### **Sensory symptoms**

Ask about the following symptoms on each side of the body and grade according to the scale below. If symptoms are asymmetrical, the worst side will be used for grading. Use worst score from the sensory symptoms.

	<u>Right</u>	<u>Left</u>
Paresthesias (tingling):	_____	_____
Numbness (dead asleep):	_____	_____
Neuropathic pain (burning, aching, stabbing)	_____	_____

0 = no symptoms

1 = symptoms limited to fingers or toes

2 = symptoms extended to ankle or wrist

3 = symptoms extended to knee or elbow

4 = symptoms above knee or elbow

**Score (0-4)**

### **Motor symptoms**

Does the patient have symptoms of weakness such as difficulty with buttons or zips, shoe's strings, washing the body or hair, combing hair, putting on make up, shaving, turning a key in a lock, opening a bottle or jar, walking, or car pedal use?

Grade these symptoms and use the worst score.

0 = none

1 = slight difficulty

2 = moderate difficulty

3 = requires help/assistance

4 = paralysis

**Score (0-4)**

### **Autonomic symptoms**

Add up the number of autonomic symptoms due to the neuropathy reported by the patient such as: Orthostatic dizziness, nocturnal diarrhea, gastro paresis, constipation, bladder dysfunction, erectile dysfunction, dry eyes/ dry mouth. Score using the scale below.

0 = no symptoms

1 = 1 symptom

2 = 2 symptoms

3 = 3 symptoms

4 =  $\geq 4$  symptoms

**Score (0-4)**

### **Pinprick sensibility**

Test the subject with a disposable needle and soft touch in order to assess the location of the impairment. At each level the patient should discriminate between five tactile or pin stimuli.

Normal values  $\leq 1/5$  mistake.

Pinprick sensibility – sites of examination with corresponding grades:

normal (grade 0) or disturbed pinprick sense at the distal phalanx of the index finger or hallux (grade 1), abnormal sense at the ulnar styloid process or medial malleolus (grade 2), at the medial humerus epicondyle or patella (grade 3), at acromio-clavicular joint or anterior superior iliac spine (grade 4).

0 = no symptoms

1 = reduced in fingers or toes

2 = reduced up to wrist or ankle

3 = reduced up to knee or elbow

4 = reduced above the level of knee or elbow

Right /\_\_\_/      Left /\_\_\_/      Pin Level (The worst side will be used for grading.)

**Score (0-4)**

### **Vibration sensibility**

The patient should report the perceptions of cessation of vibration using a

C 128 Rydel- Seiffer graduated tuning fork. The results are scored using a scale ranging from 0 (no vibration) to 8, as determined using the indications which score the intensity of the vibration on the arms of the tuning fork.



Vibration sensibility - sites of examination with corresponding grades:

normal (grade 0) or disturbed vibration sense as compared with normative values at the dorsum distal interphalangeal joint of the index finger or hallux (grade 1), abnormal sense at the ulnar styloid process or medial malleolus (grade 2), at the medial humerus epicondyle or patella (grade 3), at acromio-clavicular joint or anterior superior iliac spine (grade 4).

0 = normal

1 = reduced for age in fingers or toes

2 = reduced for age up to wrist or ankle

3 = reduced for age up to elbow or knee

4 = reduced for age above the level of elbow or knee

Right /\_\_\_/      Left /\_\_\_/

---

Vibration level (see below for age-adjusted reference values; since no formally validated values are available for proximal sites use the same reference values for all sites –The worst side will be used for grading.)

For the upper extremities

**Age:**            **Values:**

≤ 40:            ≥ 6, 5

41-85:            ≥ 6, 0

> 85:            ≥ 5, 5

For the lower extremities

**Age:**            **Values:**

≤ 40            ≥ 4, 5

41-60            ≥ 4, 0

61-85            ≥ 3, 5

> 85            ≥ 3, 0

**Score (0-4)**

## **Strength**

Score each muscle in each limb using the scale below (TNS Strength Score is the highest value obtained)

0 = normal (MRC = 5)

1 = mild weakness, but can overcome resistance (MRC = 4)

2 = moderate weakness, but can overcome gravity (MRC = 3)

3 = severe weakness, with gravity eliminated (MRC = 2)

4 = paralysis (MRC = 0 or 1)

MRC:

0 = no contraction

1 = flicker or trace of contraction

2 = active movement, with gravity eliminated

3 = active movement against gravity

4 = active movement against gravity and resistance

5 = normal power

If symptoms are asymmetrical from side-to-side, grade the worst side (right/left).

<u>Right</u>	<u>Left</u>		<u>Right</u>	<u>Left</u>	
_____	_____	Finger spread	_____	_____	Toe extension
_____	_____	Thumb abduction	_____	_____	Toe flexion
_____	_____	Wrist extension	_____	_____	Ankle plantar flexion
_____	_____	Wrist flexion	_____	_____	Ankle dorsiflexion

**Score (0-4)**

### **Deep tendon reflexes**

Score each individual reflex as 0 = absent, 1 = reduced including present only with reinforcement, i.e. Jendrassik method or related maneuvers, 2 = normal, 3 = increased and 4 = increased with clonus.

Assess the reflex pattern and score using the summary table below.

	<u>Right</u>	<u>Left</u>
Biceps	_____	_____
Triceps	_____	_____
Supinator/Brachioradialis	_____	_____
Knee	_____	_____
Ankle	_____	_____

0 = all reflexes normal

1 = ankle reflex reduced

2 = ankle reflex absent

3 = all reflexes reduced

4 = all reflexes absent

**Score (0-4)**

**Nerve conduction studies (non dominant side)**

0 = normal/ reduced to < 5% LLN

1 = 76-95% of LLN

2 = 51-75 % of LLN

3 = 26-50 % of LLN

4 = 0 – 25% of LNN

(LLN = lower limit of normal)

**Sural nerve SAP (sensory action potential amplitude)/ NCV (nerve conduction velocity)**

Right sural nerve

NCV

SAP Amp

Left sural nerve

NCV

SAP Amp

**Common peroneal nerve (CMAP)**

Right

NCV

Distal latency

CMAP Amp

Left

NCV

Distal latency

CMAP Amp

**Total amplitude Score (0-8):**

---

**TOTAL TNS SCORE (0-36):**

#### 8.4 Erfassung der grobmotorischen Fähigkeiten

Bitte geben Sie an, welche dieser folgenden Aussagen am ehesten auf Ihre alltäglichen körperlichen Fähigkeiten zutreffen.

##### 1. Duschen

0 = Keine Beschwerden

1 = Mit leichten Beschwerden

2 = Mit großen Beschwerden, aber ohne Hilfe

3 = Nicht möglich ohne Hilfe

NA=Nicht anwendbar

##### 2. Haare kämmen:

0 = Keine Beschwerden

1 = Mit leichten Beschwerden

2 = Mit grossen Beschwerden, aber ohne Hilfe

3 = Nicht möglich ohne Hilfe

NA= Nicht anwendbar

##### 3. Von einem Stuhl aufstehen:

0 = Keine Beschwerden

1 = Mit leichten Beschwerden

2 = Mit grossen Beschwerden, aber ohne Hilfe

3 = Nicht möglich ohne Hilfe

NA= Nicht anwendbar

#### **4. Gehen:**

0 = Keine Beschwerden

1 = Mit leichten Beschwerden

2 = Mit grossen Beschwerden, aber ohne Hilfe

3 = Nicht möglich ohne Hilfe

NA= Nicht anwendbar

#### **6. Treppen steigen:**

0 = Keine Beschwerden

1 = Mit leichten Beschwerden

2 = Mit grossen Beschwerden, aber ohne Hilfe

3 = Nicht möglich ohne Hilfe

NA= Nicht anwendbar

#### **7. Treppen hinuntergehen:**

0 = Keine Beschwerden

1 = Mit leichten Beschwerden

2 = Mit grossen Beschwerden, aber ohne Hilfe

3 = Nicht möglich ohne Hilfe

NA= Nicht anwendbar

## 8. Im Dunkeln gehen:

0 = Keine Beschwerden

1 = Mit leichten Beschwerden

2 = Mit grossen Beschwerden, aber ohne Hilfe

3 = Nicht möglich ohne Hilfe

NA= Nicht anwendbar

## 9. Bedienung von Autopedalen:

0 = Keine Beschwerden

1 = Mit leichten Beschwerden

2 = Mit grossen Beschwerden, aber ohne Hilfe

3 = Nicht möglich ohne Hilfe

NA= Nicht anwendbar

## Score (0-24):

0-2: keine Beeinträchtigung

3-8: leichte Beeinträchtigungen

9-16: mittlere Beeinträchtigung

17-24: große Beeinträchtigung

## 8.5 Erfassung der feinmotorischen Fähigkeiten

Bitte geben Sie an, welche dieser folgenden Aussagen am ehesten auf Ihre alltäglichen körperlichen Fähigkeiten zutreffen.

### 1. Schreiben:

0 = Keine Beschwerden

1 = Mit leichten Beschwerden

2 = Mit grossen Beschwerden, aber ohne Hilfe

3 = Nicht möglich ohne Hilfe

NA= Nicht anwendbar

### 2. Zähneputzen:

0 = Keine Beschwerden

1 = Mit leichten Beschwerden

2 = Mit grossen Beschwerden, aber ohne Hilfe

3 = Nicht möglich ohne Hilfe

NA= Nicht anwendbar

### 3. Zuknöpfen von Kleidung:

0 = Keine Beschwerden

1 = Mit leichten Beschwerden

2 = Mit grossen Beschwerden, aber ohne Hilfe

3 = Nicht möglich ohne Hilfe

NA= Nicht anwendbar



#### **4. Schuhbänder binden:**

0 = Keine Beschwerden

1 = Mit leichten Beschwerden

2 = Mit grossen Beschwerden, aber ohne Hilfe

3 = Nicht möglich ohne Hilfe

NA= Nicht anwendbar

#### **5. Fähigkeit, Schlüssel oder Gegenstände in der Tasche oder Handtasche zu erkennen:**

0 = Keine Beschwerden

1 = Mit leichten Beschwerden

2 = Mit grossen Beschwerden, aber ohne Hilfe

3 = Nicht möglich ohne Hilfe

NA= Nicht anwendbar

#### **Score (0-15):**

0-1: keine Beeinträchtigung

2-4: leichte Beeinträchtigungen

5-9: mittlere Beeinträchtigungen

10-15: große Beeinträchtigung

## 8.6 EORTC QLQ-CIPN20

Bitte geben Sie die für Sie am ehesten zutreffende Aussage bezüglich Ihrer Gesundheit an

- 1- überhaupt nicht
- 2- wenig
- 3- mässig
- 4- sehr

Während der letzten Woche:

### **Sensory scale ( 9 items)**

1. Hatten Sie ein Kribbeln in Fingern oder Hände?
2. Hatten Sie ein Kribbeln in Zehen oder Füßen?
3. Hatten Sie ein Taubheitsgefühl in Ihren Fingern oder Händen?
4. Hatten Sie ein Taubheitsgefühl in den Zehen oder Füßen?
5. Hatten Sie stechende oder brennende Schmerzen in Ihren Fingern oder Händen?
6. Hatten Sie stechende oder brennende Schmerzen in Ihren Zehen oder Füßen?
7. Hatten Sie ein Problem beim Stehen oder Gehen, weil Sie den Boden unter Ihren Füßen nicht mehr spürten?
8. Hatten Sie Schwierigkeiten, warmes von kaltem Wasser zu unterscheiden?
9. Hatten Sie Hörprobleme?

**Motor scale ( 8 items)**

10. Hatten Sie Krämpfe in Ihren Händen?
11. Hatten Sie Krämpfe in Ihren Füßen?
12. Hatten Sie Mühe, einen Stift zu halten und damit zu schreiben?
13. Hatten Sie Mühe, mit Ihren Fingern mit kleinen Gegenständen umzugehen (z.B. kleine Knöpfe zuzumachen)
14. Hatten Sie Mühe , ein Glasgefäß oder eine Flasche zu öffnen , weil Ihre Hände zu schwach waren?
15. Hatten Sie Mühe beim Gehen, weil Ihre Füße nach unten abknickten?
16. Hatten Sie Mühe beim Treppensteigen oder beim Aufstehen von einem Stuhl, weil Ihre Beine schwach waren?

**Bitte beantworten Sie die folgende Frage nur, wenn Sie Autofahrer sind.**

17. Hatten Sie Probleme beim Gebrauch der Pedale?

**Autonomic scale ( 3 items)**

18. Wurde Ihnen beim Aufstehen aus einer sitzenden oder liegenden Position schwindlig?
19. Hatten Sie eine verschwommene Sicht?

**Bitte beantworten Sie die folgende Frage nur, wenn Sie männlich sind.**

20. Hatten Sie Schwierigkeiten, eine Erektion zu bekommen oder zu erhalten?

**EORTC QLQ-CIPN20 SCORE ( 20-80 ):**

## 8. 7 Erfassung der Koordination:

### 1. Romberg-Stehversuch:

Der Patient wird gebeten, für 10 Sekunden mit nach vorn ausgestreckten

Armen, geschlossenen Beinen und nach oben gewendeten Handinnenflächen zu stehen.

- normal 1

- leicht pathologisch 2

- deutlich pathologisch 3

### 2. Tandem-Stehversuch:

Der Patient wird gebeten, bei geschlossenen Augen in folgender Stellung 10 Sekunden zu stehen: die Füße in einer Linie hintereinander gesetzt, so dass die Spitze des hinteren Fusses die Ferse des vorderen berührt.

- normal 1

- leicht pathologisch 2

- deutlich pathologisch 3

### 3. Tandem-Walking:

Der Patient wird gebeten, bei geschlossenen Augen die Füße in einer Linie hintereinander zu stellen, so dass die Spitze des hinteren Fusses die Ferse des vorderen berührt.

Dabei soll er wie auf einem Seil in einer Linie geradeausgehen, so dass die Spitze des hinteren Fusses die Ferse des vorderen berührt.

- normal 1

- leicht pathologisch 2

- deutlich pathologisch 3

**Romberg/Tandem – Score (3-9):**

3-4:	normal
5-7:	leicht pathologisch
8-9:	deutlich pathologisch

**4. Finger-Nase-Versuch:**

Der Patient soll stehend mit geschlossenen Augen jeweils mit dem Zeigefinger die Nasenspitze berühren.

		Rechter Zeigefinger	Linker Zeigefinger
Nasenspitze wird berührt	1		
Nasenspitze wird leicht verfehlt	2	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Nasenspitze wird deutlich verfehlt	3		

**5. Knie-Hacke-Versuch:**

Der Patient soll mit geschlossenen Augen die Ferse eines Beines zum Knie des anderen Beines führen. Von dort soll das Bein am Schienbein nach unten gleiten.

		rechte Ferse	linke Ferse
Die Ferse berührt das Knie und gleitet nach unten	1		
Die Ferse berührt das Knie, gleitet nicht nach unten	2	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Die Ferse berührt nicht das Knie	3		

**FNV/KHV – Score (die schlechtere Seite wird beurteilt):**

2-3: normal

3-4: leicht pathologisch

5-6: deutlich pathologisch

8.8 Erfassung der Muskelkraft - Medical Research Council (MRC) scale

(MRC sum score)

Muscle groups	Right	Left
Abduction of the arm		
Flexion of the forearm		
Extension of the wrist		
Flexion of the leg		
Extension of the knee		
Dorsal flexion of the foot		

The patient is investigated in sitting posture and/ or lying supine.

0 = no visible contraction

1 = visible contraction without movement of the limb

(not existent for hip flexors)

2 = movement of the limb but not against gravity

3 = movement against over (almost) the full range

4 = movement against gravity and resistance

5 = normal

**MRC sum score (0-60):**

### 8.9 Handdynamometry

Dominant hand (side) is:

☐

Right

☐

Left

Grip strength of dominant hand using a dynamometer.

First measurement

kp

Second measurement

kp

Third measurement

kp

---

**Average of three measurements:**

kp

(1 kp = 9, 80665 N)

## 9. Abkürzungen

AAK	Autoantikörper
aGvHD	Akute Graft-versus-host-disease
AK	Antikörper
ALG	Anti-lymphocyte globulin
ALL	Akute lymphatische Leukämie
AML	Akute myeloische Leukämie
ANA	Antinuclear antibodies
ANCA	Anti- Neutrophile zytoplasmatische Antikörper
APCs	Antigen-präsentierende Zellen
ATG	Anti-thymocyte-globulin
ATP	Adenosintriphosphat
BMT	Bone marrow transplantation
BOOP	Bronchiolitis obliterans mit organisierender Pneumonie
BSA	Body surface area
CC	Kompletter Chimärismus
CD	Cluster of differentiation
cGvHD	Chronische Graft-versus-host-disease
CIDP	Chronische inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie
CK	Kreatinkinase
CLL	Chronisch lymphatische Leukämie
CML	Chronisch myeloische Leukämie
dML	distale motorische Latenz



DLI	Donor Lymphozyten Infusion
ECP	Extrakorporale Photophorese
ED	Erstdiagnose
EMG	Elektromyographie
ENG	Elektroneurographie
GC	Gemischter Chimärismus
G-CSF	Granulocyte-colony stimulating factor
Gy	Gray
GvHD	Graft-versus-host-disease/ Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion
HCT	Haematopoietic cell transplantation
HLA	Human Leukocyte Antigen
HSCT	Hämatopoietische Stammzelltransplantation
IF-Muster	Interferenzmuster
IL	Interleukin
J	Jahre
LPS	Lipopolysaccharide
m	Männlich
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MM	Multiples Myelom
mNLG	motorische Nervenleitgeschwindigkeit
MRC	Medical Research Council
MSAP	Muskelsummenaktionspotential
MUAP	Muscle unit action potential

n.d.	Nicht durchgeführt
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NIH	National Institute of Health
NLG	Nervenleitgeschwindigkeit
PBSCT	Peripheral blood stem cell transplantation
PNP	Polyneuropathie
PNS	Peripheres Nervensystem
PSA	Pathologische Spontanaktivität
SNAP	sensibles Nervenaktionspotential
sNLG	sensible Nervenleitgeschwindigkeit
TNF $\alpha$	Tumornekrosefaktor alpha
TNS	Total Neuropathy Score
WTZ	Westdeutsches Tumorzentrum
w	Weiblich
ZNS	Zentrales Nervensystem

## 10. Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Hans Christoph Diener, der die Arbeit ermöglichte. Mein Dank gilt ebenfalls meiner Betreuerin Frau Dr. med. Susanne Koeppen, die die Studie plante, mich in die Thematik einführte und mir bei praktischen und inhaltlichen Fragen mit Rat und Tat zur Seite stand, sowie für die konstruktive Kritik bei der Durchsicht des Manuskriptes. Herrn PD Dr. med. Michael Koldehoff möchte ich für die freundliche und bereitwillige Hilfe bei der Patientenrekrutierung und für die kritischen und wertvollen inhaltlichen Anmerkungen bei der Auswertung der vorliegenden Arbeit bedanken. Mein weiterer Dank gilt den Ärzten des EMG-Labors für die Durchführung der elektroneurographischen und myographischen Untersuchungen sowie den Schwestern der KMT-Ambulanz für die Hilfe bei der Organisation der Labordiagnostik. Nicht zuletzt möchte ich mich von Herzen bei meinen Eltern für die Geduld, die Unterstützung, das Interesse und den Zuspruch bedanken!

## 11. Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.